



Escuela Técnica Superior de  
Ingenieros Agrónomos



# VII CONGRESO DE ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos  
Universidad Politécnica de Madrid**

**Madrid, 5 y 6 de mayo de 2015**

## **COMITÉ ORGANIZADOR**

### **Profesora**

Pilar García Rebollar

### **Estudiantes**

Iñigo Mauleón Pérez

María Rodríguez Francisco

### **Vocales**

Silverio Alarcón Lorenzo  
María Remedios Alvir Morencos  
Augusto Arce Martínez  
M<sup>a</sup> Antonia Bañuelos Bernabé  
Raúl Sánchez Calvo Rodríguez  
Mercedes Flórez García  
José María Fuentes Pardo  
Ana Isabel García García

Carlos Hernández Díaz-Ambrona  
Ignacio Mariscal Sancho  
M<sup>a</sup> Ángeles Mendiola Ubillos  
David Menoyo Luque  
Felipe Palomero Rodríguez  
Margarita Ruiz Ramos  
José Francisco Vázquez Muñiz  
Morris Villarroel Robinson





## PRÓLOGO

En este VII Congreso de estudiantes volvemos agradecer a todos los profesores y alumnos su participación y colaboración en todo momento para que en este Libro de Actas que tienes entre tus manos se hayan recopilado los trabajos de más de 100 estudiantes.

Todos los trabajos han sido revisados por los profesores del Comité Científico del Congreso y esperamos que las correcciones hayan sido de utilidad a los autores. Ya sólo queda “la puesta en escena” con la exposición y los nervios de hablar en público. Se dice que “**no hay temas aburridos, sino oradores poco entusiastas**”. Sabemos que nuestros estudiantes, si se han lanzado a presentar su trabajo en este Congreso, es porque entusiasmo no les falta, y los organizadores del Congreso vamos a hacer todo lo posible para que no decaiga. No obstante, como en cualquier otro evento de este tipo, tenemos un tiempo limitado y esperamos que los ponentes controlen su entusiasmo y sepan respetarlo.

Nuestro agradecimiento a la Fundación Premio Arce, a la Comunidad de Madrid a través del Proyecto MEDGAN (S2013/ABI-2913), a NANTA S.A., Dupont Industrial Biosciences, Editorial Agrícola Española, y a las Cátedras Fertiberia e Ingenio-UPM, como patrocinadores de este evento.

**Pilar García Rebollar**



# Índice de trabajos

## SESIÓN C1

|   |    |
|---|----|
| LA FECHA DE MATADO COMO TÉCNICA DE MANEJO PARA EL ÉXITO DE LOS CULTIVOS CUBIERTA .....                        | 7  |
| CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS DE SECRECIÓN TIPO VI EN LA SIMBIOSIS <i>RHIZOBIUM</i> -LEGUMINOSA..               | 11 |
| DISSECTING THE ROLE OF <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> AMIDASE 1 IN AUXIN BIOSYNTHESIS .....                      | 15 |
| CONTRIBUCIÓN DE LA DIETA A LAS EMISIONES DE METANO EN LA ESPECIE BOVINA.....                                  | 19 |
| DE RESIDUOS A BIOETANOL: VALORIZACIÓN DE BIOMASA RESIDUAL AGRÍCOLA DEL BANANO.....                            | 23 |
| IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE UNA PODREDUMBRE DE FRESA Y COMPROBACIÓN DE LOS<br>POSTULADOS DE KOCH..... | 27 |
| UNA SIEMBRA PARA EL FUTURO: DESPERTANDO VOCACIONES AGRONÓMICAS .....  | 31 |

## SESIÓN C2

|   |    |
|---|----|
| MANEJO, ALIMENTACIÓN Y MEJORA GENÉTICA DEL REBAÑO DE CABRAS DE LA MISIÓN DE<br>TODONYANG, DIÓCESIS DE LODWAR (TURKANA, KENIA.....         | 37 |
| STAR DUST MEMORIES, OR HOW TO DETECT ALLERGEN TRACES IN POWDER FOODS.....   | 41 |
| CARACTERIZACIÓN PRODUCTIVA DE LA RAZA DE CONEJOS "CONILL PAGÈS D'EIVISSA" .....   | 45 |
| EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE RESIDUOS PROCEDENTES DE LA INDUSTRIA VITIVINÍCOLA EN LA<br>DINÁMICA DEL NITRÓGENO EN DOS TIPOS DE SUELO ..... | 49 |
| ESTUDIO EDAFOLÓGICO DEL PERFIL DE UN SUELO EN EL MONTE DE EL PARDO (MADRID) .....   | 53 |
| PROGRAMACIÓN DEL RIEGO Y LA FERTILIZACIÓN DE LA PATATA EN LA RIOJA CON AQUACROP Y DSSAT.<br>.....   | 57 |
| INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO DEL INÓCULO RUMINAL EN LA FERMENTACIÓN IN VITRO DE TRES<br>FORRAJES DE DIFERENTE CALIDAD NUTRITIVA.....        | 61 |

## SESIÓN C3

|   |    |
|---|----|
| REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL CALCIO: HIPOCALCEMIA EN POSTPARTO .....  | 67 |
| DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA ZONIFICACIÓN DE HAITÍ EN FUNCIÓN DEL RIESGO<br>POTENCIAL FRENTE A BROTES DE CÓLERA..... | 71 |
| CARACTERIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS DE BRASIL CON UN ESPECTROFOTÓMETRO VERIS VIS-NIR<br>.....                                 | 75 |
| HEMP (CANNABIS SATIVA L.) AS A BIOACCUMULATOR FOR SOILS CONTAMINATED WITH HEAVY METALS<br>.....                               | 79 |
| APLICACIÓN MÓVIL PARA EL DIAGNÓSTICO DE CULTIVOS.....   | 83 |
| JASMONIC ACID SIGNALING IS LINKED TO AUXIN HOMEOSTASIS THROUGH THE MODULATION OF YUCCA<br>8 AND YUCCA 9 EXPRESSION .....      | 87 |
| DEFORESTACIÓN EN BRASIL: VULNERABILIDAD Y AMENAZAS EN TRES ECO-REGIONES (CERRADO, MATA<br>ATLÁNTICA Y AMAZONIA) .....         | 91 |
| EL CULTIVO DE LA STEVIA REVOLUCIONARÁ LA AGRICULTURA ANDALUZ.....   | 95 |

## SESIÓN C4

|  |     |
|--|-----|
| FERMENTACIÓN CECAL IN VITRO DE DIFERENTES SUSTRATOS EN EL CONEJO .....   | 101 |
| AGRICULTURA Y POBREZA EN REPUBLICA DOMINICANA .....  | 105 |
| OCCURRENCE OF PHARMACEUTICAL COMPOUNDS IN SOIL FROM SPANISH AGRICULTURAL FIELDS ...  | 109 |
| METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE GASES DE ESCAPE SOBRE CULTIVOS DE<br>MICROALGAS.....   | 113 |
| IDENTIFICACIÓN DE FUNCIONES SIMBIÓTICAS ESPECÍFICAS EN HOSPEDADOR EN RHIZOBIUM<br>LEGUMINOSARUM.....   | 117 |
| MENOS ES MÁS, AQUÍ HAY TOMATE.....   | 121 |
| EFFECTO DE LOS GRADOS DÍA DE AYUNO Y DEL HACINAMIENTO PREVIOS AL SACRIFICIO SOBRE EL<br>CONTENIDO ESTOMACAL Y RESPUESTA DE ESTRÉS EN TRUCHA ARCOÍRIS (ONCORHYNCHUS<br>MYKISS)..... | 125 |

## SESIÓN P1

|   |     |
|---|-----|
| A NOVEL METHOD TO PREDICT FUNCTIONAL GENES INVOLVED IN ABIOTIC STRESS REGULATION, USING DATASETS FROM WEB REPOSITORIES .....                                    | 131 |
| LA HENNA, UNA PLANTA TINTÓREA .....   | 135 |
| LAS EGAGRÓPILAS, FORMACIÓN E IDENTIFICACIÓN .....   | 139 |
| EXPLOTACIÓN DE GALLINAS ECOLOGICAS PARA LA PRODUCCION DE HUEVOS .....   | 143 |
| OPTIMIZACION DE UN METODO PARA CUANTIFICAR EL ÁCIDO FERÚLICO EN CEREALES Y DERIVADOS .....  | 147 |
| EFFECTO DE LA NUTRICIÓN MATERNA SOBRE EL DESARROLLO FETAL Y PLACENTARIO EN LA OVEJA .....   | 151 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL PÉPTIDO LANZADERA QUE ATRAVIESA LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA, ESTUDIOS ANTERIORES Y POSIBLES APLICACIONES .....                       | 155 |
| PROTOCOLO PARA EL ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L. A ESTRÉS HÍDRICO POR INUNDACIÓN .....   | 159 |
| RESILIENCE IN THE AYMARA COMMUNITY OF PUNO (PERU) .....   | 163 |
| PROYECTO CÁTEDRA BANCO DE ALIMENTOS-UPM .....   | 167 |
| FOIE GRAS: ENTRE LA PRODUCCIÓN GANADERA Y LA INDUSTRIA ALIMENTARIA .....  | 171 |
| ESTUDIO SOBRE LA EFICIENCIA DE LA FIJACIÓN DE NITRÓGENO POR BACTERIAS QUE NODULAN LEGUMINOSAS EN CEBIO/VALE EN LA CIUDAD DE SABARÁ, MINAS GERAIS – BRASIL ..... | 175 |
| EL PAPEL DE LA MUJER RURAL EMPRENDEDORA PARA LA SOSTENIBILIDAD DEL TERRITORIO....   | 179 |
| CARACTERIZACIÓN DE PIGMENTOS POLIMÉRICOS Y PIRANOANTOCIANOS EN MICROFERMENTACIONES DE MOSTOS DE UVA TINTA FERMENTADOS CON <i>NO-SACCHAROMYCES</i> .....         | 183 |
| ¿ES EFICIENTE LA PRODUCCIÓN DE LECHE VIRTUAL? .....   | 187 |
| MECANIZACIÓN EN LA COSECHA DE FRAMBUESAS DE PEQUEÑOS AGRICULTORES .....   | 191 |

## SESIÓN P2

|   |     |
|---|-----|
| TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE TOMATE: PROTOCOLO .....  | 197 |
| VERDADES, MITOS Y LEYENDAS (URBANAS) SOBRE CACTUS .....   | 201 |
| IMPACTO ECONÓMICO DE LA MEJORA DE LA PRODUCTIVIDAD EN LA RENTABILIDAD DEL SECTOR VACUNO DE CARNE EN ESPAÑA .....              | 205 |
| RESPUESTA PRODUCTIVA DE CONEJAS A LA INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS N-3 EN SU DIETA .....                         | 209 |
| ESTUDIO DE DIFERENTES COMPOSTS DE ORUJO COMO FUENTE DE FÓSFORO EN SUELOS CALIZOS .....  | 213 |
| EL GRAFENO, PROPIEDADES Y APLICACIONES PARA BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA.....  | 217 |
| AGROECOLOGÍA: LA NUEVA “REVOLUCIÓN AGRARIA” .....   | 221 |
| TRANSFORMACION GENETICA DE PATATA ( <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L. CV DESIREE) MEDIADA POR AGROBACTERIUM .....                   | 225 |
| PLAGAS DEL FRESNO DE HOJA ANCHA ( <i>FRAXINUS EXCELSIOR</i> L.) .....   | 229 |
| AGRICULTURA DE PRECISIÓN EN BRASIL .....  | 233 |
| IN-FORMA-ME: ANÁLISIS CUANTITATIVO DE CAMBIOS MORFOLÓGICOS EN COLONIAS DE LEVADURA .....                                      | 237 |
| DESAFÍOS EN EL DESARROLLO DE SUSTRATOS PARA PLÁNTULAS DE ESPÁRRAGO ( <i>ASPARAGUS OFFICINALIS</i> L.) .....                   | 241 |
| BÚSQUEDA DE ALTERNATIVAS SOSTENIBLES DE RESIDUOS DE COCINA Y RESTOS VEGETALES CON FINES AGRÍCOLAS .....                       | 245 |
| RESPUESTA DEL OLIVAR EN SETO (CV. ARBEQUINA) AL RIEGO DEFICITARIO CONTROLADO (RDC) DURANTE LA FASE DE SÍNTESIS DE ACEITE..... | 249 |
| PHOTOVOLTAIC APPLICATION IN MODERN AGRICULTURE .....  | 253 |

## **SESIÓN C1**







## LA FECHA DE MATADO COMO TÉCNICA DE MANEJO PARA EL ÉXITO DE LOS CULTIVOS CUBIERTA

Alonso-Ayuso, María

Tutores: Gabriel, José Luis; Quemada, Miguel

Departamento de Producción Agraria. ETSI Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.  
maria.alonso.ayuso@gmail.com

### RESUMEN

El uso de cultivos cubierto (CC) durante el período intercultivo tiene numerosas ventajas para el ecosistema, pero si su manejo es inadecuado, puede producirse una competencia por los recursos con el cultivo posterior. Se realizó un ensayo para estudiar el efecto de la “fecha de matado” del CC, fundamentalmente sobre el contenido de agua y nitrógeno (N) del suelo. Los tratamientos fueron el barbecho y un CC (mezcla: cebada-veza), sembrado en octubre y matado en dos fechas en primavera. Las variables medidas fueron: biomasa y composición química del residuo, cobertura vegetal, agua y N mineral del suelo, y N potencialmente mineralizable. Con una fecha de matado temprana, el riesgo de competición por recursos disminuyó. La decisión de fecha de matado resultaría interesante para la mitigación de pérdidas de nitratos por lixiviación. Por tanto, la fecha de matado es una técnica de manejo crucial para maximizar los beneficios de los CC.

**Palabras clave:** cultivo captura, déficit hídrico, nitrógeno.

### INTRODUCCIÓN

Uno de los riesgos del uso de CC en sustitución del barbecho es la competición por los recursos que puede producirse con el cultivo principal que se establece después (Thorup-Kristensen *et al.*, 2003). La elección de la fecha de matado del CC es una técnica de manejo que puede influir en dicha competición, ya que puede afectar los balances de agua y N del suelo, que a su vez dependen de numerosos factores como son la biomasa aérea del CC y cobertura del suelo durante su crecimiento, la absorción de N, o la composición química de los residuos que quedan en superficie (Thorup-Kristensen *et al.*, 2003, Stubbs *et al.*, 2009). No existe aún consenso sobre las ventajas o limitaciones de retrasar o no dicha fecha. Para tener un mejor entendimiento de esta técnica de manejo se realizó un experimento de dos años, en que se evaluó su efecto sobre los factores antes mencionados, y principalmente sobre el contenido de agua y N en el suelo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo desde octubre de 2011 a noviembre de 2013, en Aranjuez (Madrid). Se establecieron tres tratamientos: un suelo desnudo (SD) y dos fechas de matado de CC, con cuatro repeticiones, asignadas al azar. La mezcla de CC (30% cebada, 70% veza) se sembró en octubre. Las parcelas del tratamiento de la primera fecha (FK) se mataron a mediados de marzo y las correspondientes al tratamiento de la segunda fecha (SK) a mediados de abril, por aplicación de glifosato y posterior siega. El último día de abril se consideró fecha hipotética de plantación; y representa el comienzo del periodo de “mulch”. Durante el crecimiento del CC, se siguió la evolución de la cobertura del suelo mediante toma de fotos y análisis digital posterior (Ramírez-García *et al.*, 2012). Previo a la aplicación de glifosato, se determinó la biomasa aérea del CC y su composición química (concentración de C y N, y contenido en fibra); y se determinó la fijación atmosférica de N<sub>2</sub> por la veza mediante el método de abundancia natural. Antes de la siembra del CC, y tras la fecha de segunda fecha de matado de los CC, se tomaron muestras de suelo hasta una profundidad de 1.20 m, en intervalos de 0.2 m, y se midió el N inorgánico (N<sub>min</sub>). Tras la segunda fecha del segundo año, se tomaron igualmente muestras de suelo del horizonte más superficial y se determinó la mineralización potencial del N, mediante una incubación aerobia. El contenido de agua en suelo se monitoreó diariamente con sensores Enviroscan®, hasta 1.20 m de profundidad,



igualmente en intervalos de 0.2 m (Gabriel *et al.*, 2011). Para cada variable se realizaron los análisis estadísticos pertinentes (ANOVA, ajustes de modelos, regresión no lineal).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El CC cubrió completamente el suelo ambos años (>80%); siendo alcanzada la máxima cobertura ya en la primera fecha de matado. Por tanto, en términos de control de erosión del suelo, retrasar la fecha de matado no supuso un beneficio adicional.

**Tabla 1. Biomasa aérea y N contenido en los cultivos cubierta para la primera fecha (FK) y segunda fecha (SK) de matado.**

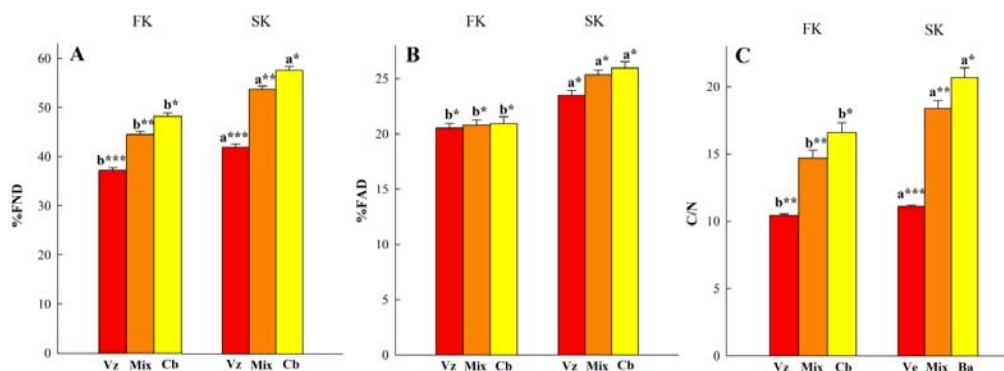
|           | Biomasa aérea (kg ha <sup>-1</sup> ) |                  | Contenido de N (kg ha <sup>-1</sup> ) |                |
|-----------|--------------------------------------|------------------|---------------------------------------|----------------|
|           | 2011-2012                            |                  |                                       |                |
|           | FK                                   | SK               | FK                                    | SK             |
| Cebada    | 3390.4 (66.3) b                      | 5263.5 (580.6) a | 78.9 (6.4) b                          | 107.3 (11.5) a |
| Veza      | 1215.9 (158.2)                       | 1351.2 (377.3)   | 45.4 (5.8)                            | 47.8 (13.2)    |
| Mezcla    | 4606.4 (179.8) b                     | 6614.6 (502.5) a | 124.2 (10)                            | 155.1 (12.9)   |
| 2012-2013 |                                      |                  |                                       |                |
| Cebada    | 3623.3 (327.7) b                     | 5562.2 (494) a   | 97.4 (4.3) b                          | 114.9 (1.7) a  |
| Veza      | 2202.1 (138.8)                       | 2228.2 (133.6)   | 89 (5)                                | 89.1 (5)       |
| Mezcla    | 5825.5 (403.2) b                     | 7790.3 (458.1) a | 186.3 (6.8)                           | 204 (6.2)      |

Entre paréntesis se presenta el error estándar. Para cada fila y variable, valores diferentes letras indican diferencias significativas entre ambas fechas de matado ( $p \leq 0.05$ )

La biomasa aérea se incrementó de una fecha a otra principalmente debido a la cebada, que fue mejor competidor que la veza por su rápido establecimiento y crecimiento; y porque el N disponible del suelo no era un factor limitante. Esta diferencia en biomasa aérea quedó reflejada en la cantidad de residuo que quedó en superficie: tras el periodo de mulch, los residuos en el suelo fueron mayores en SK que en FK (ambos años, prácticamente el doble de cantidad de residuo). La mayor parte del contenido de N se acumuló antes de la primera fecha; no hubo diferencias entre ambas fechas (Tabla 1). La fijación atmosférica de N<sub>2</sub> fue muy elevada (>80% del contenido de N) pero no se encontraron igualmente diferencias entre fechas.

El retrasar la fecha de matado, además proporcionó residuos más recalcitrantes a la descomposición: la concentración de N disminuyó (2,95 a 2,5%), mientras que el ratio C/N y las fracciones de fibra neutro detergente y ácido detergente se incrementaron (Figura 1).

**Figura 1. Fibra neutro detergente- FND (A), fibra ácido detergente- FAD (B), y ratio C/N (C) en la veza (Vz) y cebada (Cb) y en la mezcla (Mix), en las fechas de matado.**



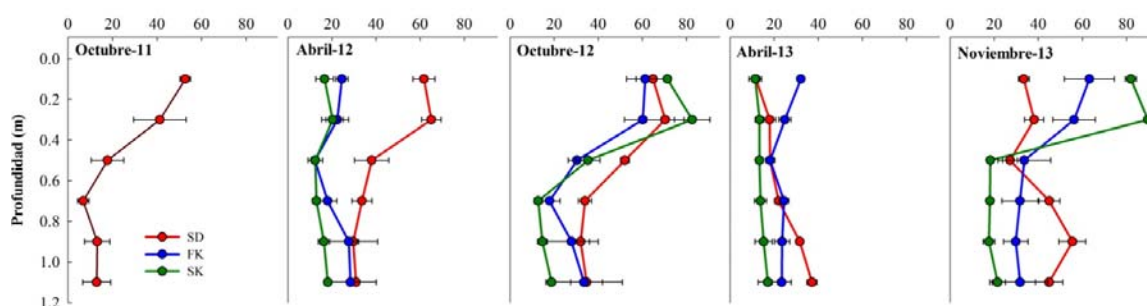
Los valores son la media de ambos años. Las letras sobre las barras muestran diferencias significativas entre las fechas de matado para cada especie; los asteriscos diferencias entre especies ( $p \leq 0.05$ ). Las barras pequeñas representan el error estándar.



En general, los CC absorbieron la mayor parte del  $N_{\min}$  disponible durante su crecimiento, por lo que en el momento de plantación del cultivo del primer año, el contenido fue mayor en el SD (Figura 2). Sin embargo, en el segundo año, el contenido fue significativamente inferior en el SK ( $84 \text{ kg N ha}^{-1}$ ) que en los otros tratamientos ( $\sim 140 \text{ kg N ha}^{-1}$ ). El tratamiento FK acumuló más  $N_{\min}$  en los horizontes superiores debido a la mineralización temprana entre esa primera fecha y el muestreo de suelo ( $\sim 4$  semanas). Por tanto el retraso de la fecha de matado incrementó el riesgo de competición; si bien también puede ser considerado un efecto positivo, ya que el mantener en el perfil un nivel bajo de  $N_{\min}$  permitiría controlar las pérdidas por lixiviación que pueden producirse en los primeros meses en que la irrigación del cultivo es mayor, y así incrementar la eficiencia de uso de N. Ambos años, gracias a la mineralización de los residuos en los tratamientos con CC, durante el periodo de mulch, el suelo incrementó el  $N_{\min}$ . Al final del ensayo, en noviembre de 2013, ese incremento fue muy relevante debido a su distribución en el perfil: mientras que en el SD el  $N_{\min}$  se encontraba principalmente en los horizontes profundos, y por tanto con riesgo potencial de ser perdido por lixiviación posteriormente; en el tratamiento de SK, el  $N_{\min}$  estaba situado en los horizontes superficiales y por tanto listo para ser absorbido por el siguiente cultivo. El tratamiento de FK tuvo un valor intermedio (Figura 2). Se aprecia en el estudio, por tanto, el efecto de reciclaje que los CC tienen sobre el sistema suelo-planta mediante la absorción de N inorgánico de horizontes profundos y posterior liberación en horizontes superficiales. En concreto el retraso de la fecha de matado potenció dicho reciclaje, previniendo así pérdidas de N disponible al mantener bajo niveles de N inorgánico en el suelo.

Por su parte, el potencial de mineralización de N fue superior en los suelos del tratamiento de SK ( $34 \text{ mg N kg suelo}^{-1}$ ) que en el SD ( $24 \text{ mg N kg suelo}^{-1}$ ). Este valor superior en los tratamientos con CC apoya el resultado del incremento de  $N_{\min}$  que se produjo durante los periodos en que el suelo quedó cubierto con los residuos.

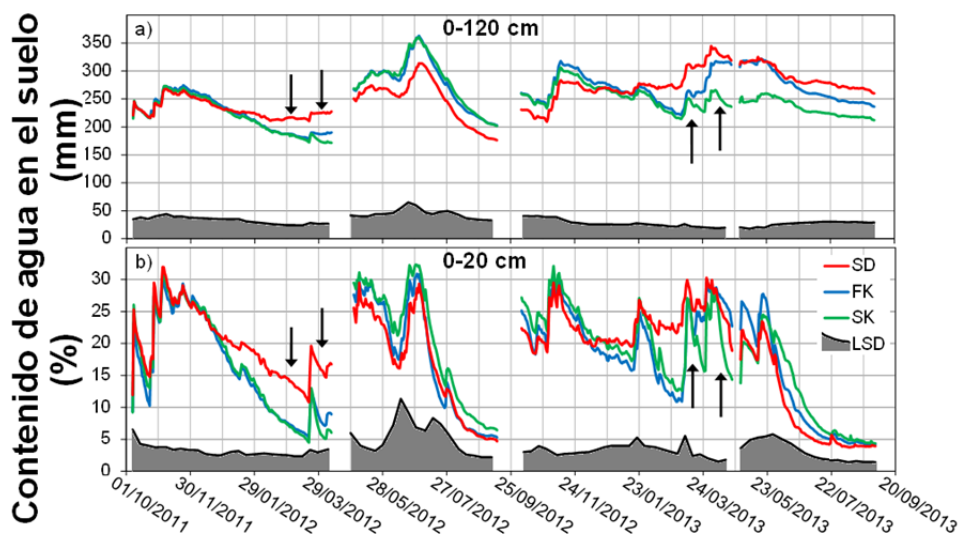
**Figura 2. Nitrógeno inorgánico en el suelo ( $\text{kg N ha}^{-1}$ ) para los tratamientos de suelo desnudo (SD), primera (FK) y segunda fecha (SK) de matado en los diferentes momentos de muestreo.**



Durante su crecimiento los CC extrajeron el agua de los horizontes superiores; y el contenido de agua en el suelo fue mayor en el SD que en los tratamientos de CC en el momento de matado (Figura 3). En el primer año de ensayo, no hubo diferencias entre los tratamientos de CC. Sin embargo, en el segundo año en que se produjeron precipitaciones notables entre las fechas de matado, en SK, el contenido de agua fue similar en el tratamiento de FK y el SD por el agua que retuvo en el mulch (Figura 3a). Se observó igualmente que durante ese periodo entre fechas de matado, la cantidad de biomasa de SK provocó un aumento de la evaporación en el horizonte superficial del suelo (Figura 3b). Por tanto el matado temprano del CC mejoró la humedad en la capa superficial del suelo en primavera con respecto a la fecha tardía, preservando el agua acumulada por precipitación entre fechas de matado. Durante el periodo de primavera y verano, los tratamientos siempre retuvieron más humedad que el SD ya que gracias al residuo en superficie disminuyeron las pérdidas de agua por evaporación.



**Figura 3. Contenido de agua acumulado en el perfil del suelo, y el contenido en el horizonte más superficial, para los tratamientos de suelo desnudo (SD), primera (FK) y segunda (SK) fecha de matado durante el periodo experimental.**



Las flechas representan las fechas de matado. La zona sombreada en la zona inferior representa el LSD ( $p \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

El retraso en la fecha de matado no mostró más beneficios en términos de erosión de suelo o control de malas hierbas derivados del CC vivo; ni tampoco permitió una mayor fijación de  $N_2$  atmosférico por parte de la veza. Sin embargo, sí se observaron efectos en términos del balance de nitrógeno y de contenido de agua del suelo. Un retraso en la fecha, a pesar de proporcionar más residuos más recalcitrantes y por tanto más adecuados para proteger al suelo en verano y permitir una liberación más lenta del nitrógeno, dependiendo de las condiciones climáticas podría tener como consecuencia una competición con el cultivo posterior por el agua y el nitrógeno del suelo.

Este estudio confirmó que la fecha de matado tiene un efecto importante en factores clave del sistema planta-suelo, y por tanto es una herramienta de manejo crucial para optimizar los beneficios derivados de los CC y minimizar sus posibles desventajas (Alonso-Ayuso *et al.*, 2014).

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la *Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología* (proyecto AGL2011-24732) y el Gobierno Regional de Madrid (AGRISOST, S2009/AGR-1630). Agradecemos al personal de la estación de La Chimenea (IMIDRA) por su indispensable ayuda.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Ayuso M, Gabriel JL, Quemada M 2014 The kill date as a management tool for cover cropping success. PLoS ONE, 9 2014, p. e109587 <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0109587>.
- Gabriel JL, Lizaso JI, Quemada M 2010 Laboratory versus field calibration of capacitance probes. Soil Science Society of America Journal 74: 593-601.
- Ramirez-Garcia J, Almendros P, Quemada M 2012 Ground cover and leaf area index relationship in a grass, legume and crucifer crop. Plant Soil and Environment 58: 385-390.
- Thorup-Kristensen K, Magid J, Jensen LS 2003 Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. Advances in Agronomy 79: 227-302.
- Stubbs TL, Kennedy AC, Reisenauer PE, Burns JW (2009) Chemical Composition of Residue from Cereal Crops and Cultivars in Dryland Ecosystems. Agronomy Journal 101: 538-545.



## CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS DE SECRECIÓN TIPO VI EN LA SIMBIOSIS RHIZOBIUM-LEGUMINOSA

Pacheco, Alba; Marchesini, Giuseppina; Durán, David

Tutor: Rey, Luis

Departamento de Biotecnología. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid  
alba.pacheco.moreno@alumnos.upm.es, g.marchesini@alumnos.upm.es, david.duran.wendt@upm.es

### RESUMEN

El análisis de los genomas de cepas de *Bradyrhizobium* sp. aisladas de *Lupinus mariae-josephae*, *L. angustifolius* y *Retama sphaerocarpa*, así como de cepas de *Rhizobium* aisladas de *Mimosa affinis* y *Phaseolus vulgaris*, ha permitido identificar la presencia de sistemas de secreción tipo VI de proteínas (T6SS). Los T6SS están implicados en la interacción planta-bacteria mediante el transporte de proteínas efectoras al citoplasma de células vegetales a través de una estructura similar a una nanojeringa de bacteriófago. El análisis se centra en las cepas *Bradyrhizobium* sp. ISLU101, aislada de *L. angustifolius* y *Rhizobium etli* Mim1 aislada de *M. affinis*, capaz de nodular judías. Mim1 e ISLU101 contienen uno y dos T6SS, respectivamente. Una característica distintiva de los T6SS activos es que las proteínas Hcp y VgrG, que forman parte de la nanojeringa, pueden secretarse al medio extracelular; así para determinar cuando son activos los T6SS identificados, se están realizando inmunoensayos.

**Palabras clave:** Sistema de secreción tipo VI, nanojeringa, interacción rizobio-leguminosa, efector.

### INTRODUCCIÓN

La familia *Leguminosae* es la mayor familia de plantas reconocida. Cuenta con más de 20.000 especies agrupadas en unos 750 géneros, se encuentra dentro del orden Rosales y su fruto característico es la legumbre. Existen tres subfamilias: *Papilionoideae*, *Cesalpinoideae* y *Mimosoideae*. Las leguminosas poseen gran interés y son conocidas y utilizadas en alimentación humana y animal desde la Antigüedad. También tienen usos ornamentales, en regeneración de suelos o en la industria maderera. La importancia de esta familia radica en su capacidad para establecer simbiosis con unas bacterias del suelo denominadas rizobios.

Los rizobios habitan en el suelo alrededor de las raíces de las plantas o rizosfera. Estas bacterias son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico, haciéndolo asimilable para la planta, a cambio de una parte de los fotoasimilados (azúcares) elaborados por la leguminosa. El proceso de fijación de nitrógeno se lleva a cabo en unas estructuras especializadas de las raíces de la leguminosa denominadas nódulos.

La fijación biológica de nitrógeno supone un importante aporte a los suelos agrícolas de este elemento, indispensable para los cultivos, así como una disminución en la adición de fertilizantes nitrogenados los cuales acarrearán múltiples consecuencias medioambientales. Los sistemas de secreción de proteínas bacterianas que poseen los rizobios son uno de varios mecanismos que pueden afectar a la interacción con la leguminosa (Deakin y Broughton, 2009). Gracias a ellos, los rizobios son capaces de inyectar en la célula vegetal proteínas (efectores) que la planta puede reconocer.

Se ha descrito una respuesta variada a los efectores dependiendo de quienes son los actores en la simbiosis rizobio-leguminosa. En algunos casos los efectores facilitan la entrada de la bacteria al interior de las raíces de la leguminosa al ser suprimida la reacción de defensa de la planta, en otros impiden la simbiosis efectiva o no tienen efecto.

En este trabajo se presenta el análisis de sistemas de secreción tipo VI identificados en diferentes rizobios.



## MATERIAL Y MÉTODOS Cepas y plásmidos utilizados

- Cepas
  - *Escherichia coli* DH5α
  - *E. coli* BL21(DE3)
  - *Bradyrhizobium* sp. ISLU101
  - *Rhizobium etli* Mim1
- Plásmidos
  - pCR2.1 TOPO
  - pT7-7

### Crecimiento de plantas y microorganismos

Las semillas se desinfectaron con lejía al 25% tras incubarse un minuto en etanol. En el caso de *Lupinus mariae-josephae* y *Retama sphaerocarpa* a continuación se les realizó un corte en la cubierta para facilitar su germinación. Tras lavarse con abundante agua, posteriormente se crecieron en invernadero en hidroponía con solución Leonard y en condiciones bacteriológicamente controladas.

Los cultivos microbianos de rizobio se incubaron a 28°C en medio YMB (Yeast Mannitol Broth), TY (Tryptone Yeast) y medio mínimo. Los cultivos microbianos de las cepas de *E. coli* se incubaron en medio LB (Luria-Bertani) con el antibiótico apropiado a cada caso, si procedía.

### Expresión en *E. coli* de la proteína Hcp de *R. etli* Mim1 y *B. sp.* ISLU101

Mediante PCR con oligonucleótidos especialmente diseñados se amplificó una variación del gen *hcp* capaz de codificar una extensión peptídica (Streptag) en el extremo C-t. Este gen se clonó en el vector comercial pCR2.1 TOPO y se realizó una transformación (Sambrook y Russell, 2001) en la cepa de *E. coli* DH5α. Una vez seleccionadas las cepas con el inserto adecuado, se extrajo el ADN plasmídico mediante Miniprep (Sambrook y Russell, 2001) para su posterior clonaje definitivo en el vector pT7-7. Dicho vector se transformó *E. coli* BL21 (DE3) donde se indujo la expresión de la proteína en presencia de IPTG.

### Análisis bioinformático

La identificación de varios sistemas de secreción en los genomas de las bacterias estudiadas se realizó mediante análisis BLAST (Basic Local Alignment SearchTool) a partir de secuencias reconocidas como pertenecientes a T6SS de varios rizobios de bases de datos. El alineamiento de las proteínas Hcp de varios rizobios se obtuvo con el programa MULTALIN.

### Realización de inmunoensayos (Western Blot)

La proteína Hcp con la cola Strep expresada en *E. coli* se identificó con anticuerpos específicos antiStrep y con anticuerpos anti Hcp de *Agrobacterium tumefaciens* C58 cedidos por la Dra Erh Min Lai (Wu et al., 2008; Wu et al.2012). Para ello se realizaron geles de SDS-PAGE que se transfirieron a una membrana de Immobilon-P. La membrana se incubó con los anticuerpos correspondientes según protocolos estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de T6SS se identificaron tras un análisis de tipo BLAST que permitió alinear la parte del genoma de las cepas estudiadas con la agrupación génica que codifica para un T6SS en *B. japonicum* USDA110.

**Tabla 1. Rizobios que presentan sistemas de secreción tipo VI (T6SS).**

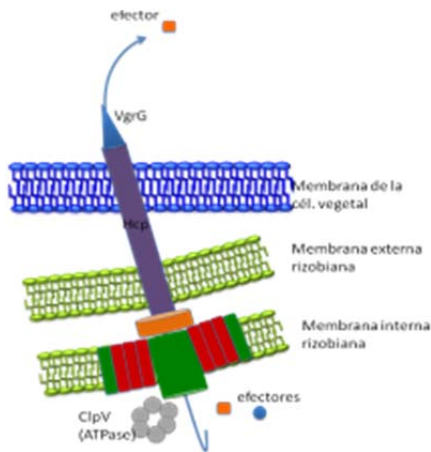
| Rizobio                | <i>B. sp.</i> LmjM3       | <i>B. sp.</i> ISLU101   | <i>B. sp.</i> Rst89 y RSB6 | <i>R. etli</i> Mim1                               |
|------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------|---|
| Leguminosa hospedadora | <i>L. mariae-josephae</i> | <i>L. angustifolius</i> | <i>R. sphaerocarpa</i>     | <i>Mimosa affinis</i> / <i>Phaseolus vulgaris</i> |

En la Tabla 1 se muestran los rizobios que presentan T6SS y las plantas a las que nodulan.



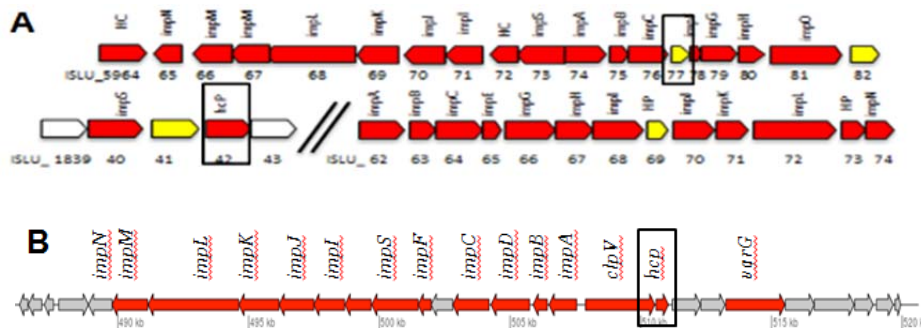
La estructura de un T6SS se muestra en la Figura 1. La organización de los genes que codifican para los dos T6SS identificados en la cepa ISLU101 y el de la cepa Mim1 se indican en la Figura 2. En todas las agrupaciones se encuentran el gen que codifica para la proteína Hcp, señalado en la Figura 2. Este gen codifica una proteína que es parte integrante de la estructura que forma la nanojeringa y que se encuentra extracelularmente cuando el T6SS es activo (Fig. 1) (Silverman et al., 2012; Ma et al., 2014).

**Figura 1. Posible estructura y funcionamiento de un T6SS en simbiosis.**



El análisis de la proteína Hcp de las diferentes bacterias ha mostrado que existen importantes diferencias respecto al grado de identidad de aminoácidos. Estos datos se recogen en la Tabla 2 e indican un alto grado de identidad entre Hcp de Mim1 y *Agrobacterium* (94%). Esto nos indujo a utilizar los anticuerpos desarrollados contra Hcp de *Agrobacterium* (ver Fig. 3). Tras demostrar que eran efectivos contra Hcp de la cepa Mim1 expresado en *E. coli*, se realizó un análisis de la expresión de Hcp en la cepa Mim1 crecida en un medio rico como YMB después de haber crecido durante tres días por lo que el cultivo estaba en fase estacionaria.

**Figura 2. Organización génica de T6SS. En rojo se colorean los genes conservados en todas las agrupaciones que codifican para los T6SS. Con un recuadro se destaca el gen *hcp*. A En la cepa *B. sp.* ISLU101. B En la cepa *R. etli* mim1.**



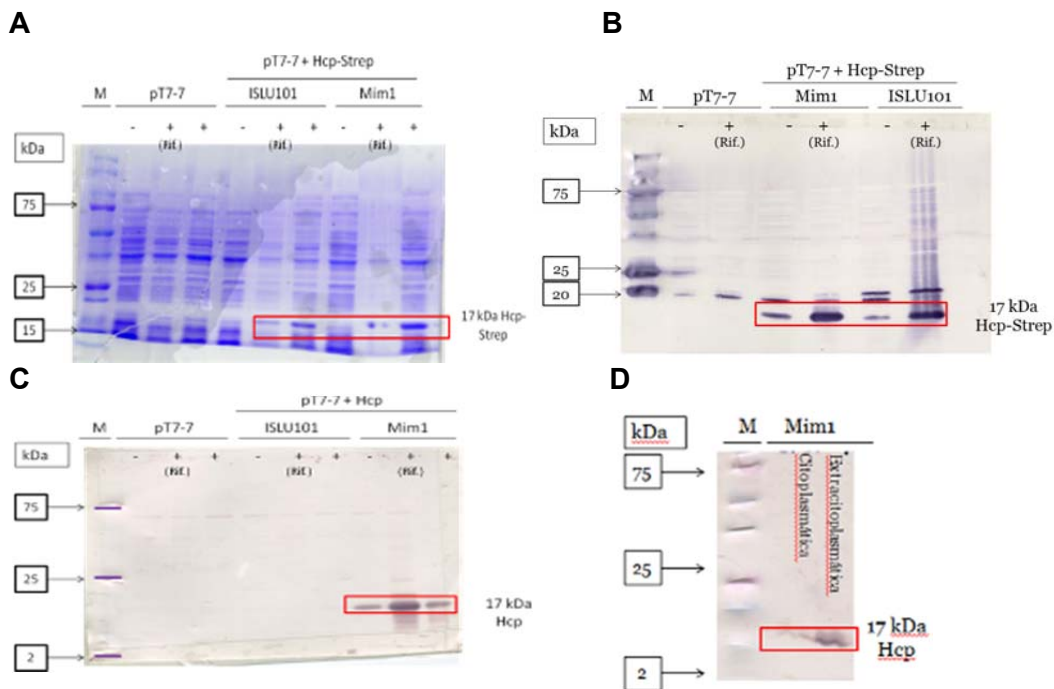
**Tabla 2. Porcentaje de identidad aminoacídica entre varias proteínas Hcp.**

| % de identidad | HcpI101.1 | HcpI101.2 | HcpMim1 | HcpAgrobac | HcpUSDA110 |
|----------------|-----------|-----------|---------|------------|------------|
| Hcp_ISLU101.1  | 100%      | 23%       | 22%     | 22%        | 99%        |
| Hcp_ISLU101.2  | 23%       | 100%      | 24%     | 24%        | 23%        |
| Hcp_Mim1       | 22%       | 24%       | 100%    | 94%        | 22%        |
| Hcp_Agrobac.   | 22%       | 24%       | 94%     | 100%       | 22%        |
| Hcp_USDA110    | 99%       | 23%       | 22%     | 22%        | 100%       |





**Figura 3. Identificación de la proteína Hcp de los genes correspondientes de las cepas ISLU 101 y Mim 1. A** Expresión de Hcp-Strep en *E. coli* mediante SDS-PAGE y tinción con azul de Coomassie. **B** Inmunoblot de un gel como A con anticuerpos anti colas Strep. **C** Idem a B pero con anticuerpos anti Hcp de *Agrobacterium*. **D** Inmunoblot con anticuerpos antiHcp y con muestras de la cepa Mim1.



## CONCLUSIONES

Los anticuerpos antiHcp de *Agrobacterium* reconocen Hcp de la cepa Mim1.  
El T6SS de la cepa Mim1 se expresa en vida libre en fase estacionaria y medio YMB.

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Luis Rey por su apoyo y ayuda imprescindibles. A David Durán por su gran capacidad de resolución. A Ana Isabel Bautista por su excelente asistencia técnica. A la Dra. Erh Min Lai del Institute of plant and microbial biology (Taiwan) por cedernos anticuerpos de *Agrobacterium* anti-Hcp. Este trabajo ha sido financiado en parte por la UPM-Actividades con Latinoamérica-México-Perú AL15- PID-37.

## BIBLIOGRAFÍA

- Deakin WJ and Broughton WJ. 2009. Symbiotic use of pathogenic strategies: rhizobial protein secretion systems. *Nature Reviews Microbiology* 7, 312-320
- Ma LS, Hachani A, Lin JS, Filloux A and Lai EM. 2014. *Agrobacterium tumefaciens* deploys a superfamily of type VI secretion DNase effectors as weapons for interbacterial competition in planta. *Cell Host Microbe*. 16: 94-104.
- Sambrook and Russell. *Molecular cloning. A laboratory manual*. 2001. Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York. Vol. 1: 105 – 111.
- Silverman JM, Brunet YR, Cascales E and Mougous JD. 2012. Structure and regulation of the type VI secretion system. *Annu Rev Microbiol*. 66: 453-72.
- Wu CF, Lin JS, Shaw GC and Lai EM. 2012. Acid-induced type VI secretion system is regulated by ExoR-ChvG/ChvI signaling cascade in *Agrobacterium tumefaciens*. *PLoS Pathog*. 8: 1-18.
- Wu HY, Chung PC, Shih HW, Wen SR and Lai EM. 2008. Secretome analysis uncovers an Hcp-family protein secreted via a type VI secretion system in *Agrobacterium tumefaciens*. *J Bacteriol*. 190: 2841-50.





## DISSECTING THE ROLE OF *ARABIDOPSIS THALIANA* AMIDASE 1 IN AUXIN BIOSYNTHESIS

Sánchez-Parra, Beatriz; Pollmann, Stephan

Tutor: Pollmann, Stephan

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), Campus de Montegancedo, 28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid), Autovía M-40 km-38, España.

beatriz.sanchez@upm.es; stephan.pollmann@upm.es

### ABSTRACT

Plant growth and development largely rely on the plant hormone indole-3-acetic acid (IAA), the most abundant naturally occurring auxin. Although much is known about the physiology of auxin, the picture of auxin biosynthesis is still uncertain. Here, we provide evidence that AMIDASE 1 (AMI1) is capable of influencing auxin contents by analysing different allelic *knock out* (k.o.) mutants and some inducible over-expressor lines for *AMI1*. In addition, we observed similar enzymatic properties in other analysed AMI1-like proteins from *Oryza sativa*, *Sorghum bicolor*, *Medicago truncatula*, and *Populus trichocarpa*. Furthermore, we investigated the distribution of AMI1-like proteins in the plant kingdom, observing a widespread occurrence, which suggests an important role of this enzyme in plant development.

**Key words:** *AMIDASE 1 (AMI1), Indole-3-acetic acid (IAA), Auxins.*

### INTRODUCTION

Numerous molecules are known to function as plant hormones, but plant shape is largely controlled by auxin, the major plant growth factor. In particular, indole-3-acetic acid (IAA), the most common naturally occurring auxin, plays an essential role in regulating plant growth, including embryo and root patterning, organ formation, vascular tissue differentiation and growth responses to environmental cues (Davies, 2004).

Although much is known about the physiology of auxin, the picture of auxin biosynthesis is still uncertain. A small number of pathways for IAA biogenesis have been proposed but only one of these pathways is completely defined.

Since IAM has been disclosed as an endogenous compound of higher land plants (Pollmann *et al.*, 2002; Sugawara *et al.*, 2009) and since its *in vitro* formation from Trp has been shown (Pollmann *et al.*, 2009), one possible last step in the formation of IAA is the hydrolysis of IAM to IAA by specialized IAM hydrolases.

One corresponding gene from *Arabidopsis thaliana*, coding for an IAM-hydrolase, *AMI1*, has already been identified and characterized in close detail (Pollmann *et al.*, 2003; Pollmann *et al.*, 2006; Neu *et al.*, 2007). However, it is not yet clear whether AMI1 is a component of an independent IAM-pathway or if it is part of other different auxin pathways.

The results of the experiments described here provide unequivocal evidence for the involvement of AMI1 in auxin biosynthesis. Also, our studies highlight the widespread distribution of AMI1-like proteins in the plant kingdom, suggesting an important function of this enzyme in plant development.

### MATERIALS AND METHODS

**Plant material and plant growth conditions:** All experiments were carried out using *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotype Col-0 (from Nottingham *Arabidopsis* Stock Centre (NASC), stock N1092), *O. sativa* L. cv. Millin (obtained from Yanco Rice Research Institute, Yanco, NSW, Australia), *S. bicolor* (L.) Moench var. Redland, *M. truncatula* Gaert. cv. Jemalong A17, or *P. trichocarpa* Hook. (Botanical Garden, Ruhr-University Bochum, Germany). The T-DNA lines for *AMI1* (At1g08980) were obtained from the NASC. *Arabidopsis thaliana* and rice lines were grown under sterile conditions in



Murashige and Skoog medium (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with vitamins and 1% sucrose for *A. thaliana*, and 3% (w/v) sucrose and 0.3% (w/v) gelrite (Duchefa, Netherlands) for rice. Leaf material from poplar was directly taken from mature trees grown in their natural environment and *S. bicolor* and *M. truncatula* seeds were sown onto a mixture of soil and sand (2:1) and cultivated in a greenhouse at 22 to 24 °C during daytime and 18 to 20 °C over night, with a 16 h light/8 h dark cycle.

**Analysis of mRNA expression by qRT-PCR:** Total RNA was prepared from 100 mg of plant tissue and converted to cDNA by using a Promega (Madison, USA) RT-PCR kit, according to manufacturer's instructions. The specific primers used for *AMI1* in qRT-PCR were (F-5'-TGCATTCCGTCTCTCATGGCC-3', R-5'- CGGCAATGGTCGATCTTCTCG-3'); and as controls *UBQ10* (F-5'-TTGGAGGATGGCAGAACTCTTGCT-3', R-5'-AGTTTTCCCAGTCAACGTCTTAACGAAA-3') and *APT1* (F-5'-TCGTGCTGTTCCTTGCAACCG-3',R-5'-GCGGAGGAGAAGAGGCGGAGT-3') housekeeping gene primers.

**Auxin quantification:** 100 mg of plant tissue was used to quantify the IAA content on a SCION triple quadrupole (TQ) detector (Bruker). GC-MS/MS system as previously described by Pollmann et al. (2009).

**Assay for amidase activity:** Amidase activity was estimated by measuring the ammonia released from the amide substrates during the reaction as previously described (Neu et al., 2007).

**Phylogenetic analysis:** The phylogenetic tree was inferred using the Neighbour-Joining method (Saitou et al., 1987). The percentage of replicate trees was calculated by a bootstrap test with 500 replicates (Felsenstein, 1985). The evolutionary distances were computed using the Poisson correction method (Zuckerandl and Pauling, 1965) and are in the units of the number of amino acid substitutions per site. Phylogenetic analyses were conducted in MEGA5 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, MEGA Software).

## RESULTS AND DISCUSSION

**Study of AtAMI1 involvement in the conversion of IAM into IAA:** Here, we took a genetic approach to analyse different *AMI1* loss- and gain-of-function mutants (figure 1-1 and 1-2). Out of three available T-DNA insertion lines, we isolated two functional *k.o.* mutants, *ami1-1* and *ami1-2* (figure 1-1, A). The *ami1-2* mutation provoked the biggest decrease in *AMI1* activity and IAA content (figure 1-1, B and C). In addition, we generated a number of independent inducible *AMI1*-overexpressor lines. As expected, both the enzymatic *AMI1*-activity of these lines and the free IAA levels were higher compared to wild-type *Arabidopsis* plants (figure 1-2).

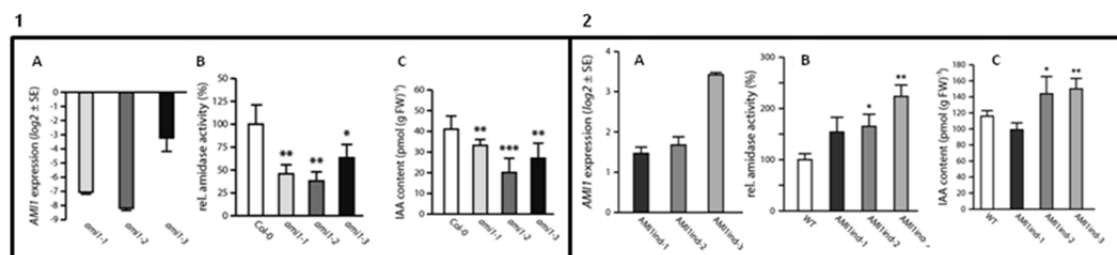
In summary, these results allow the conclusion that *AMI1* is involved in auxin synthesis *in vivo*, most likely by converting IAM to IAA.

**Phylogenetic analysis:** The study of primary amino acid sequence homologies among proteins is a common tool that facilitates estimation of the origin, evolution, and distribution of target proteins in nature. We were interested in elucidating the distribution of *AMI1*-like proteins in the plant kingdom. So, we used the *Arabidopsis* IAM-hydrolase (*AtAMI1*, At1g08980) nucleic acid and the translated primary amino acid sequences, to search for IAM-hydrolase orthologs in different available databases (e.g., Phytozome, Plant Gene Duplication Database).

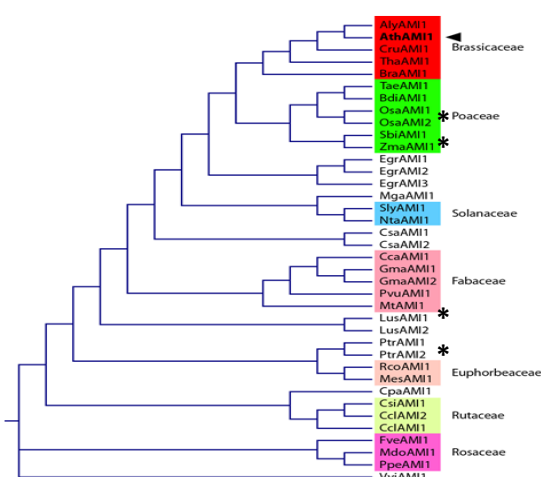
We obtained and analyzed phylogenetically the amino acid sequence for *AMI1* from 30 plant species (Figure 2).



**Figure 1. Characterization of *ami1* T-DNA insertion lines and AMI1ind lines: (1,2) Study of loss- and gain-of-function mutants respectively. (1-A) RT-PCR analysis of *AMI1* gene expression in the T-DNA insertion lines (*ami1-1*; *ami1-2* and *ami1-3*) and in wild-type (Col-0) plants. (1-B) IAM hydrolase activity in *ami1* T-DNA insertion mutants, in comparison to Col-0. (1-C) Quantification of free IAA levels in the *ami1* T-DNA lines *ami1-1*, *ami1-2*, and *ami1-3* relative to Col-0. IAA quantification was achieved by GC-MS analysis. (2-A) Analysis of *AMI1* gene expression in inducible gain-of-function mutants by *qRT-PCR*. The analyzed mutants were: AMI1ind-1; AMI1ind-2 and AMI1ind-3. (2-B) IAM hydrolase activity in extracts of wild-type (WT) plants and AMI1ind mutants. (2-C) Comparison of endogenous IAA levels in AMI1 overexpressing lines and in WT plants. The free IAA levels were determined by GC-MS.**



**Figure 2. Cladogram of more than 30 AMI1-like proteins from plants.**



Consensus tree inferred from 1000 replicates was generated to represent the phylogenetic relationships of the proteins analysed. Proteins highlighted in bold letters have already been enzymatically characterized in our group (Pollmann *et al.*, 2003; Pollmann *et al.*, 2006). The amidases further studied in this work are labelled with asterisks. Plant species that belong to the same family are given in coloured boxes.

In the Figure 2, a widespread distribution of AMI1-like proteins in the plant kingdom can be observed, being present in plant genomes published so far. It is assumed that AMI1 originated from bacteria and was passed onto plants during the course of co-evolution. Later on, after the divergence of the plant kingdom, AMI1-like proteins were also maintained in dicots plants.

The conservation of the enzyme and of its respective gene in the plant kingdom suggests an important function of AMI1 in plant development.

**Functional analysis of plant amidases:** Next, we performed a number of *in vitro* experiments to analyse whether corresponding IAM-hydrolases of *Oryza sativa* (*O. sativa*), *Sorghum bicolor* (*S. bicolor*), *Medicago truncatula* (*M. truncatula*), and *Populus trichocarpa* (*P. trichocarpa*) possess enzymatic properties similar to AtAMI1.

The comparison of amidases was carried out using equal amounts of total protein (5 µg each) from desalted elution fractions and substrate concentrations of 10 mM (various different substrates were tested). The enzymatic parameters explored for the different enzymes together with the specific activities are shown in Table 1.



**Table 1. Comparison of the enzymatic parameters obtained for recombinant amidases from *S. bicolor*, *O. sativa*, *P. trichocarpa*, and *M. truncatula* with those of the *A. thaliana* AMI1 <sup>a</sup>.**

| Parameter  | AtAMI1     | SbAMI1     | OsAMI1    | PtAMI1    | MtAMI1    |
|--|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| Amino acid identity to AtAMI1 [%]                | 100        | 58         | 57        | 64        | 66        |
| Intracellular localization                       | cytoplasm  | cytoplasm  | cytoplasm | cytoplasm | cytoplasm |
| Specific activity (IAM) [pkat mg <sup>-1</sup> ] | 3070 ± 520 | 2378 ± 324 | 375 ± 52  | 329 ± 22  | 37 ± 3    |
| Temperature optimum [°C]                         | 37         | 45         | 27        | 37        | 35        |
| pH optimum                                       | 7.5        | 6          | 7.5       | 7.5       | 7.5       |
| Calculated molecular weight [kDa]                | 46         | 45         | 50        | 53        | 57        |

<sup>a</sup> The data shown are means ± SE from at least three independent experiments.

Table 1 shows that the analysed amidases share similar properties with AtAMI1, showing comparable pH and temperature optima. The pH 6 and 7.5 for all of them is distinctive of cytosolic proteins, like AtAMI1. However, in the temperature optima, OsAMI1 is acting optimally at slightly lower temperatures (27°C), with respect to the other amidases. That can be explained by the differences of habitats: *O. sativa* lives in paddy fields while *A. thaliana*, *S. bicolor*, *P. trichocarpa* and *M. truncatula* grow on dry land.

Observing the specific activity, we find that OsAMI1 and PtAMI1 showed an approximately ten-fold decrease in specific activity towards IAM, whereas the MtAMI1 displayed a 100-fold decrease in specific activity for the same substrate *in vitro*. Nevertheless, all studied amidases preferentially converted IAM relative to IAA. In assays with empty vector controls and heat-denatured protein fractions, respectively, no considerable substrate conversion was detected.

In summary, besides a cytoplasmic localization similar to that of AtAMI1, all of the examined enzymes are indeed functionally related with respect to their enzymatic activity. They all catalyse the conversion of IAM to IAA *in vitro*, albeit with different specific activities (Table 1).

## CONCLUSIONS

The genetic studies (figure 1) provided evidence for the involvement of AtAMI1 in auxin biosynthesis. Also, the phylogenetic analysis showed the widespread distribution and preservation of AMI1-like proteins in the plant kingdom (figure 2). Finally, enzymatic assays for four AtAMI1-orthologous analysed, namely OsAMI1 (*O. sativa*), SbAMI1 (*S. bicolor*), MtAMI1 (*M. truncatula*), and PtAMI1 (*P. trichocarpa*) (Table 1), corroborated the conservation of AMI1-like proteins that appear in the phylogenetic tree. All these results reveal the important function of AMI1 (converting IAM into auxin) in plant development.

## Acknowledgments

The research was supported in part by a grant from the Spanish Ministry of Science and Innovation (Grant No. BFU2011-25925 to SP) and by the Marie-Curie Actions program from the European Community (Grant FP7-PEOPLE-CIG-2011-303744 to SP).

## REFERENCES

- Davies PJ., 2004. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.
- Felsenstein J., 1985. *Evolution*, 39:783–791.
- Murashige T., Skoog F., 1962. *Physiol Plant*, 15: 473–497.
- Neu D., Lehmann T., Elleuche S., Pollmann S. 2007. *FEBS J.*, 274: 3440–3451.
- Pollmann S., Muller A., Piotrowski M., Weiler E W., 2002. *Planta*, 216: 155–161.
- Pollmann S., Neu D., Weiler E W., 2003. *Phytochemistry*, 62: 293–300.
- Pollmann S., Neu D., Lehmann T., Berkowitz O., Schäfer T., Weiler E W., 2006. *Planta*, 224: 1241–1253.
- Pollmann S., Dücking P., Weiler E W., 2009. *Phytochemistry*, 70:523–531.
- Saitou N., Nei M., 1987. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406–425.
- Sugawara S., Hishiyama S., Jikumaru Y., Hanada A., Nishimura T., Koshiba T., Zhao Y., Kamiya Y., Kasahara H., 2009. *PNAS*, 106:13, 5430–5435.
- Zuckerkindl E., Pauling L., 1965. In *Evolving Genes and Proteins*; Bryson, V., Vogel, H.J., Eds.; Academic Press: New York, NY, USA, 1965; pp. 97–166.



## CONTRIBUCIÓN DE LA DIETA A LAS EMISIONES DE METANO EN LA ESPECIE BOVINA

Martínez Alba.; Atencia Luz Karime; Rubio José Manuel

Tutor: Rebollar, Pilar G.

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

lk.atencia@alumnos.upm.es, jose.rcaro@alumnos.upm.es, alba.martinez.doncel@alumnos.upm.es

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue buscar información sobre la emisión de CH<sub>4</sub> por los rumiantes, sus posibles efectos en el calentamiento y en el cambio climático global, así como las alternativas existentes para su mitigación.

**Palabras clave:** *Metano, bovino, efecto invernadero*

### INTRODUCCIÓN

El metano es el hidrocarburo alcano más sencillo, cuya fórmula química es CH<sub>4</sub>. La producción de metano en bovino (metanogénesis ruminal) deriva de la digestión anaerobia microbiana (De Blas et al., 2008). Este gas, principal contribuyente de las emisiones pecuarias en el efecto invernadero, ha motivado en los últimos años gran número de investigaciones para mitigarlo.

El metano se encuentra en segundo lugar en la contribución mundial de gases de efecto invernadero por detrás del CO<sub>2</sub>, pero tiene un poder de recalentamiento global 21 veces superior. La actividad ganadera contribuye con 15-20% de la emisión de CH<sub>4</sub> (IPCC, 2001) y tiene una vida media de 10 años en la atmósfera (Vargas et al, 2012). Éste ya representa el 57% de las emisiones de gases de efecto invernadero asociadas a la ganadería y el 36,2% de las emisiones de metano en nuestro país. La producción de metano entérico constituye una pérdida energética para el rumiante de entre el 2-12% de la energía bruta aprovechable (Johnson y Johnson, 1995).

### FACTORES RESPONSABLES EN LA PRODUCCIÓN DE METANO

La producción de metano en bovino varía según diversos factores: consumo de alimento, composición y digestibilidad de la dieta, procesamiento previo del alimento y frecuencia de la alimentación (FAO, 2013)

Según el punto de vista del consumo de alimento, a medida que aumenta la ingesta diaria el porcentaje de energía bruta que se pierde como CH<sub>4</sub> se reduce. Sin embargo, esto depende a su vez del tipo de alimento, ya que por ejemplo, cuando se ofrecen cantidades limitadas de carbohidratos altamente digestibles, ocurre proporcionalmente una elevada pérdida de CH<sub>4</sub> y viceversa, cuando se ofrecen grandes cantidades de carbohidratos altamente digestibles, ocurre proporcionalmente menor pérdida de CH<sub>4</sub>.

Como hemos dicho al principio, la producción de metano es parte de los procesos digestivos normales de los animales. Durante la digestión, los microorganismos presentes en el aparato digestivo fermentan el alimento consumido por el animal. Este proceso conocido como fermentación entérica, produce metano como un subproducto (metanogénesis ruminal), que puede ser exhalado o eructado por el animal.

El proceso de fermentación, que tiene lugar en el rumen, ofrece una oportunidad para que los microorganismos degraden la celulosa, transformándola en productos que pueden ser absorbidos y utilizados. Las bacterias metanogénicas son las responsables de la producción del metano y cumplen una función muy importante, al proveer un mecanismo para eliminar el hidrógeno producido en el rumen.

Pasto fresco: Al ofertar forrajes con alta (61,5%), media (50,7%) o baja (38,5%) digestibilidad de la materia orgánica (DIVMO) consistentes en una mezcla de heno de



leguminosa y gramínea de alta calidad, heno de gramínea de mediana calidad y heno de gramínea de baja calidad, respectivamente, se encontró que la producción de  $\text{CH}_4$  se incrementó conforme la DIVMO se redujo (Bonilla y Lemus, 2012). Es decir, al incrementar la digestibilidad del forraje se reducen las emisiones de  $\text{CH}_4$ .

**Forrajes:** Han sido objeto de estudio plantas forrajeras gramíneas C3, C4 y leguminosas. Estos términos hacen referencia a las diferentes rutas metabólicas que usan las plantas para capturar el dióxido de carbono durante la fotosíntesis. En las plantas C3, el producto de fijación del dióxido de carbono es un compuesto de tres átomos de carbono, siendo de 4 átomos de carbono en las C4. Las gramíneas C3 son más digestibles que las C4, generando más metano los animales alimentados con C4. Se ha probado que los rumiantes alimentados con gramíneas C4 produjeron un 17% más de  $\text{CH}_4$  que los animales alimentados con gramíneas C3 (FAO, 2013).

En leguminosas tropicales bajas en taninos (metabolitos secundarios de las plantas, capaces de ligarse a compuestos de la dieta disminuyendo la degradabilidad de algunos nutrientes, inhibir actividad enzimática y disminuir protozoos y bacterias celulolíticas) aumentan las emisiones de  $\text{CH}_4$ . Mientras que las leguminosas de clima templado en comparación con las gramíneas produjeron un 25% menos. (FAO, 2013)

El uso de fuentes de fibra poco lignificadas implica una mayor tasa de fermentación y de producción de metano que el de forrajes o subproductos altamente lignificados.

**Relación forraje-concentrado:** Los concentrados proporcionan energía al animal gracias a la fermentación rápida generando ácido propiónico. El aporte de alimentos concentrados en la dieta de los rumiantes disminuirá las emisiones de  $\text{CH}_4$  entérico, especialmente cuando el consumo de materia seca sea superior al 40%. Este aumento de concentrado lleva consigo una posible acidosis para el animal, generada por una reducción en la digestión de la fibra, alterando la fermentación hacia la formación de menor ácido acético y mayor de ácido propiónico. En este caso las emisiones de  $\text{CH}_4$  disminuirán, a costa del bienestar del animal.

Es decir, un forraje menos degradable implicará una menor acidosis y un aumento de las emisiones de metano. La cantidad de ácido propiónico producida y sobre todo la proporción de ésta respecto a la del ácido acético, es el factor de mayor impacto en la producción de  $\text{CH}_4$ . La fermentación de las paredes celulares de la fibra resulta en alta proporción acético-propiónico, y por ende mayores pérdidas de  $\text{CH}_4$ .

**Procesamiento previo del alimento:** El molido y el peletizado de los forrajes disminuye marcadamente la producción de  $\text{CH}_4$ ; sin embargo, este efecto no se manifiesta cuando el consumo se restringe. Parece ser que la mayor tasa de pasaje que provocan estos procesos, es la causa de la menor producción. La amoniatización o suplementación proteínica a forrajes de baja calidad provoca mayor pérdida de  $\text{CH}_4$ , proporcional al mejoramiento en la digestibilidad, sin embargo, la pérdida global (por unidad de producto) disminuiría, según Johnson y Johnson (1995). Cuanto más picado sea el alimento, la degradabilidad disminuye, y por tanto disminuye la producción de gas metano.

**Frecuencia de alimentación:** Si queremos mantener el bienestar animal deberíamos mantener la ración mezclada (concentrado más forraje) y disponible todo el tiempo. Si en cambio, queremos disminuir las emisiones de  $\text{CH}_4$  por eructación, deberíamos separar mucho la ración de forraje y concentrado, dando el concentrado dos veces al día, disminuyendo el pH ruminal pero con ello, teniendo el riesgo de aumentar la acidosis.



## ALTERNATIVAS PARA REDUCIR LA CANTIDAD DE METANO EMITIDO POR RUMIANTES

Entre las estrategias para combatir las emisiones de metano ( $\text{CH}_4$ ), se ha propuesto la manipulación dietética-nutricional, que es la que tiene mayor potencial, simplicidad y factibilidad.

Existen otras líneas de investigación para reducir la metanogénesis, que se clasifican en 3 grupos: (Bonilla y Lemus, 2012)

1) Disminución de  $\text{CH}_4$  en el rumen indirectamente, por ejemplo, la defaunación, estimulando la fermentación propiónica en el rumen, disminuyendo la cantidad de carbohidratos estructurales y aumentando la de carbohidratos de fácil fermentación en la dieta.

2) Evaluación de productos que inhiben directamente a las bacterias metanogénicas; por ejemplo, la producción de vacunas, utilizando extractos de plantas, ionóforos, antibióticos específicos, bacteriófagos y bacteriocinas.

3) Evaluación de vías alternas para la utilización del  $\text{H}^+$  producido en rumen, con el objetivo de limitar la producción de  $\text{CH}_4$ .

## CONCLUSIONES

El metano es un problema actual, debido al aumento de cabezas de ganado, que se debería tener en cuenta en las explotaciones ganaderas y en el ámbito pecuario en general. La reducción de éste es complicada, debido a que las soluciones para disminuir las emisiones de metano suponen un aspecto negativo para el bienestar animal.

Como conclusión final, tras el estudio de esta información, creemos que la mejor solución es controlar la alimentación, para que el animal aproveche al máximo la energía de los alimentos, minimizando así las emisiones de  $\text{CH}_4$ .

## BIBLIOGRAFIA

- Bonilla J.A. y Lemus C. (2012). Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Rev. Mex. Cienc Pecu. 3, 215-246. Disponible en <http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/201204053108.pdf>, [Consultado el 1/05/2014]
- De Blas C., García P. Cambra M., Torres A.G. (2008). Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero, XXIV Curso de especialización FEDNA, 121-150. Disponible en <http://www.produccion-animal.com.ar/sustentabilidad/89-gases.pdf> [Consultado el 1/05/2014]
- FAO Producción Sanidad y Animal 2013. Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera. Cuadernos técnicos de la FAO, 177. Pierre J. Gerber, Benjamin Henderson y Harinder P.S. Makkar Eds. Disponible en: (<http://www.fao.org/3/a-i3288s.pdf>) [Consultado el 1/05/2014]
- Fondevila M. (1998). Procesos implicados en la digestión microbiana en los forrajes de baja calidad. Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/manejo\\_del\\_alimento/19-digestion\\_microbiana.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/19-digestion_microbiana.pdf) [Consultado el 1/05/2014]
- Johnson K.A. and Johnson D. E. (1995). Methane emissions from cattle. Disponible en <http://webpages.icav.up.pt/PTDC/CVT/098487/2008/Johnson,%201995.pdf> [Consultado el 1/05/2014]
- Vargas J. Cárdenas E. Pabón M. Carulla J. et al. (2012). Emisión de metano entérico de rumiantes en pastoreo, disponible. Archivos de Zootecnia 61, 51-66. Disponible en [http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/11\\_13\\_35\\_2649REVISIONProduccionVargas.pdf](http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/11_13_35_2649REVISIONProduccionVargas.pdf), [Consultado el 1/05/2014]







## DE RESIDUOS A BIOETANOL: VALORIZACIÓN DE BIOMASA RESIDUAL AGRÍCOLA DEL BANANO

Guerrero Hinojosa, Ana Belén

Tutores: Aguado Cortijo, Pedro Luis<sup>1</sup>; Curt, María Dolores<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Madrid

Correo electrónico: anabelen.gh@gmail.com

### RESUMEN

El banano es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y genera grandes cantidades de residuos lignocelulósicos que no son aprovechados en la actualidad. El Ecuador es el principal exportador de banano, y El Oro una de sus principales provincias productoras. El objetivo de este trabajo fue determinar las características químicas de los residuos lignocelulósicos del banano y estimar la potencialidad energética de los mismos para la producción de bioetanol en El Oro. Se realizó una caracterización química de la biomasa donde se pudo observar que la cantidad de holocelulosa disponible en la biomasa es alta variando entre un 34% - 46%. Utilizando sistemas de información geográfica se determinó el potencial energético, estimando 38.603 ha disponibles para la recolección de la biomasa, la misma que podrá producir hasta 43.8 millones de litros de etanol al año.

**Palabras clave:** *Banano, Residuos, Bioetanol*

### INTRODUCCION

El banano (*Musa spp.*) es un cultivo tropical, herbáceo y perenne de la familia *Musaceae*, nativo del sudoeste de Asia, pero que se encuentra distribuido a nivel mundial. Es el tercer cultivo frutal de mayor importancia. En el 2013 la producción mundial fue de 106 millones de toneladas (FAO, 2014). Los principales productores son India, Filipinas y Ecuador (Robinson & Galán, 2012).

El Ecuador es el mayor exportador aportando un 29% a las exportaciones a nivel mundial (INEC, 2010). A nivel nacional se cuentan con más de 217.000 ha dedicadas al cultivo de este rubro (INEC, 2013), de las cuales las provincias de Los Ríos, El Oro y Guayas abarcan cerca del 81% de la superficie cultivada (MAGAP, 2013).

El cultivo de banano genera grandes cantidades de biomasa residual agrícola debido a que la planta produce un único racimo en su vida. Estos residuos pueden ser aprovechados en varias actividades agrícolas como compost y fertilizantes, pero también pueden ser aprovechados en actividades energéticas, generando un valor agregado a esta biomasa residual que pasa a ser una materia prima. La biomasa lignocelulósica se ha estudiado someramente para generación de energía térmica a través de su combustión directa, pero hay que considerar que esta biomasa también se podría utilizar para obtener bioetanol de segunda generación (Santa-Maria, Ruiz-Colorado, Cruz, & Jeoh, 2013). El objetivo de este trabajo fue determinar las características químicas de la biomasa lignocelulósica para su aprovechamiento en bioetanol de segunda generación y su potencial energético en la provincia de El Oro – Ecuador.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de muestras

La muestra de biomasa lignocelulósica de banano se recolectó en Ecuador, seleccionando el grupo genómico AAA, subgrupo Cavendish. Se tomaron muestras de pseudotallo, hojas y raquis. Las muestras se picaron y se secaron en estufa a 65 °C



durante cuatro días, hasta alcanzar el peso seco para determinación de humedad. Posteriormente, el material seco fue molido hasta llegar a un tamaño de partícula de 1 mm y fue almacenado en estufa a 40°C.

#### Análisis de la composición química

La composición química se determinó siguiendo los procedimientos analíticos estandarizados del Laboratorio Nacional de Energías Renovables – NREL (NREL, 2008). Además se determinó el poder calorífico siguiendo la norma AENOR UNE-EN 14918. Todos los ensayos se realizaron por duplicado.

Para determinar el potencial energético se utilizó el Sistema de Información Geográfica ArcGIS© 10. La zona de estudio fue la provincia de El Oro – Ecuador, que cuenta con 63.883 ha de cultivo de banano. A partir de datos bibliográficos y capas cartográficas se realizaron estudios para determinar la superficie cultivada, la producción anual, el ratio de residuo por producto en la zona de estudio y la posible localización de plantas de producción aplicando restricciones en el área de cultivo asignado a cada planta en función de los costes de producción y transporte a planta. Con estos datos se estimó la cantidad de biomasa disponible y la producción potencial de bioetanol de segunda generación por vía bioquímica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Composición Química*

La composición química de los diferentes residuos lignocelulósicos del banano se presenta en la Tabla 1. El alto contenido en cenizas que este material presenta se debe a un alto contenido en sales de sodio y silicio (Oliveira, Cordeiro, Evtuguin, Torres, & Silvestre, 2007). Debido a la cantidad de holocelulosa que presenta esta biomasa podría ser aprovechada en la producción de bioetanol de segunda generación. Los valores varían entre un 34% – 46%, que coinciden con los estudios realizados por Velásquez-Arredondo et al. (2010), Santa-Maria et al. (2013), Oliveira et al. (2007) y Fernandes et al. (2013), siendo el de mayor relevancia el tallo debido a su alto contenido en celulosa y hemicelulosa. Se toma en cuenta que del total de los residuos lignocelulósicos generados, el 65% representa el pseudotallo, el 32% las hojas y un 3% el raquis.

**Tabla 1. Composición química de la biomasa recolectada en Ecuador.**

|                                       | <b>Raquis</b> | <b>Pseudotallo</b> | <b>Hojas</b> |
|---------------------------------------|---------------|--------------------|--------------|
| PCI <sub>0</sub> <sup>1</sup> (MJ/kg) | 10,09         | 10,49              | 16,46        |
| Celulosa (%)                          | 26,38         | 38,01              | 21,93        |
| Hemicelulosa (%)                      | 10,20         | 8,65               | 12,76        |
| Lignina (%)                           | 9,35          | 8,96               | 21,47        |
| Cenizas (%)                           | 26,59         | 17,58              | 15,71        |
| Extractivos (%)                       | 19,91         | 24,11              | 18,00        |
| Grupos acetil (%)                     | 1,42          | 1,30               | 1,19         |
| Total                                 | 92,44         | 97,30              | 89,87        |

<sup>1</sup> Poder calorífico inferior

El rendimiento en bioetanol varía en función de la cantidad de carbohidratos estructurales que la biomasa disponga. Según Velásquez-Arredondo et al. (2010) el raquis puede llegar a tener un rendimiento de 123 l.t<sup>-1</sup> bs, mientras que Santa-María et al. (2013)



demuestra un rendimiento de 304 l.t<sup>-1</sup> bs del pseudotallo y hojas. Estos rendimientos varían en función de los pretratamientos utilizados, el sistema de sacarificación y fermentación y los microorganismos empleados en la fermentación.

#### Potencialidad

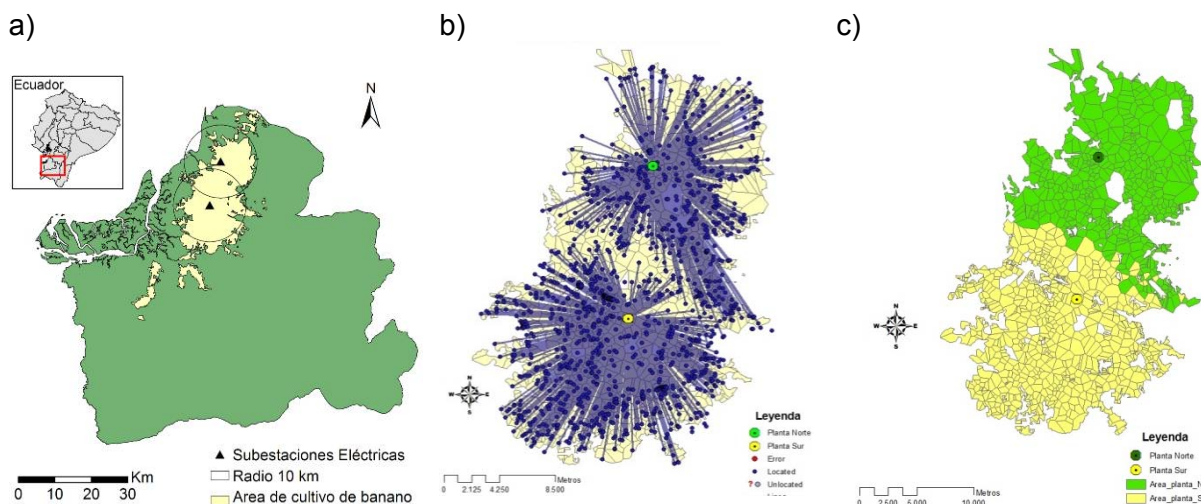
El área de estudio fue la provincia de El Oro que dispone de 63.883 ha cultivadas de banano, las mismas que se encuentran concentradas en el noroeste de la provincia Imagen 1 (a), Dentro de este área se encuentran ubicadas dos subestaciones eléctricas, que se tomaron como punto de referencia para estimar una localización de las plantas. Según Graefe et al. 2011 la biomasa se debe encontrar a un radio de 10 km para asegurar una sostenibilidad económica y ambiental. Como se puede observar en la Imagen 1 (a), un radio de 10 km a partir de las plantas cubre la mayoría de la superficie cultivada. En función de los costes de producción se estimó que la biomasa puede ser transportada hasta 20 km por carretera (Eq. 1), desde el lugar de cosecha hasta la planta de producción más cercana Imagen 1 (b). En base a la localización de las parcelas respecto a las plantas de producción, el área de aprovechamiento se redujo a 38.605 ha, de donde se recolectará la biomasa residual agrícola ver Imagen 1 (c).

$$\text{Eq.1 } RD = \frac{((1-\%ganancia)*B)-C-(PY)}{T}$$

Donde RD es la distancia máxima por carretera (km), el porcentaje de ganancia varía entre 10% y 15%, B es el precio del mercado (\$·t<sup>-1</sup>), C es el costo de la biomasa (\$·t<sup>-1</sup>), P es el costo de producción (\$·t<sup>-1</sup>) y T es el coste del transporte (\$·t<sup>-1</sup>·km<sup>-1</sup>).

Teniendo en cuenta un ratio de residuo a producto de 2.13 t.t<sup>-1</sup> bf (Amoo-Gottfried & Hall, 1999; Jingura & Matengaifa, 2008; Tock, Lai, Lee, Tan, & Bhatia, 2010); y para determinar la cantidad de bioetanol anual que se podría producir en ambas plantas se utilizó una media de los rendimientos obtenidos en bibliografía (213 l.t<sup>-1</sup>), siendo este valor muy parecido a rendimientos de biomazas que actualmente se utilizan a nivel industrial como es el rastrojo de maíz y la paja de trigo (IRENA, 2013).

**Imagen 1. a) Localización de la zona de estudio y cobertura de las plantas de transformación en un radio de 10 km b) Distribución de la biomasa c) Área a ser aprovechada.**





Con la restricciones realizadas, se determinó que de las 38,603 ha disponibles, se cosecharían 2.934.139 t bf.año<sup>-1</sup> de biomasa lignocelulósica que podrán producir 43.8 millones l.año<sup>-1</sup>

## CONCLUSIONES

La biomasa residual lignocelulósica del banano puede ser aprovechada para la producción de bioetanol de segunda generación. Su potencialidad puede ser estimada con herramientas GIS dependiendo de su disponibilidad y sus características químicas. El Oro puede llegar a producir hasta 43 millones de litros de bioetanol a partir de la biomasa residual que genera.

## AGRADECIMIENTOS

La autora agradece al Grupo de Investigación de Agroenergética de la Universidad Politécnica de Madrid y al Centro de Investigaciones Energéticas y Medioambientales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah, N., Sulaiman, F., & Taib, R. M. (2013). Characterization of banana (*Musa spp.*) plantation wastes as a potential renewable energy source. *AIP Conference Proceedings*, 1528(8), 325-330. doi:10.1063/1.4803618
- Amoo-Gottfried, K., & Hall, D. . 1999. A biomass energy flow chart for Sierra Leone. *Biomass and Bioenergy*, 16(5), 361-376.
- FAO. 2014. FAOSTAT. Recuperado 25 de febrero de 2015, a partir de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>
- Fernandes, E. R. K., Marangoni, C., Souza, O., & Sellin, N. 2013. Thermochemical characterization of banana leaves as a potential energy source. *Energy Conversion and Management*, 75, 603-608. doi:10.1016/j.enconman.2013.08.008
- Graefe, S., Dufour, D., Giraldo, A., & Muñoz, L. 2011. Energy and carbon footprints of ethanol production using banana and cooking banana discard: a case study from Costa Rica and Ecuador. *Biomass and Bioenergy*, 35, 2640 - 2649. doi:10.1016/j.biombioe.2011.02.051
- INEC. 2010. Análisis del Sistema Agroalimentario del Banano en el Ecuador. Recuperado 23 de octubre de 2014, a partir de <http://www.ecuadorencifras.com/sistagroalim/pdf/Banano.pdf>
- INEC. 2013. Visualizador de Estadísticas Agropecuarias del Ecuador. Recuperado 23 de octubre de 2014, a partir de <http://200.110.88.44/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html#app=dbb7&9270-selectedIndex=1>
- IRENA. 2013. Production of Liquid Biofuels. Recuperado 16 de marzo de 2015, a partir de [http://www.irena.org/DocumentDownloads/Publications/IRENA-ETSAP Tech Brief P10 Production\\_of\\_Liquid Biofuels.pdf](http://www.irena.org/DocumentDownloads/Publications/IRENA-ETSAP_Tech_Brief_P10_Production_of_Liquid_Biofuels.pdf)
- Jingura, R. M., & Matengaifa, R. 2008. The potential for energy production from crop residues in Zimbabwe. *Biomass and Bioenergy*, 32(12), 1287-1292. doi:10.1016/j.biombioe.2008.03.007
- MAGAP. 2013. Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. Recuperado 15 de marzo de 2014, a partir de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/banano-2>
- NREL. 2008. Standard Procedures for Biomass Compositional Analysis. Recuperado 2 de marzo de 2015, a partir de [http://www.nrel.gov/biomass/analytical\\_procedures.html](http://www.nrel.gov/biomass/analytical_procedures.html)
- Oliveira, L., Cordeiro, N., Evtuguin, D. V., Torres, I. C., & Silvestre, A. J. D. (2007). Chemical composition of different morphological parts from 'Dwarf Cavendish' banana plant and their potential as a non-wood renewable source of natural products. *Industrial Crops and Products*, 26(2), 163-172. doi:10.1016/j.indcrop.2007.03.002
- Robinson, J., & Galán, V. 2012. *Plátanos y bananas* (Mundi-Pren.). Madrid.
- Santa-Maria, M., Ruiz-Colorado, A., Cruz, G., & Jeoh, T. 2013. Assessing the Feasibility of Biofuel Production from Lignocellulosic Banana Waste in Rural Agricultural Communities in Peru and Colombia. *Bioenergy Research*, 6, 1000-1011. doi:10.1007/s12155-013-9333-4
- Tock, J. Y., Lai, C. L., Lee, K. T., Tan, K. T., & Bhatia, S. 2010. Banana biomass as potential renewable energy resource: A Malaysian case study. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 798-805. doi:10.1016/j.rser.2009.10.010
- Velásquez-Arredondo, H. I., Ruiz-Colorado, A. A., & De Oliveira junior, S. 2010. Ethanol production process from banana fruit and its lignocellulosic residues: Energy analysis. *Energy*, 35(7), 3081-3087. doi:10.1016/j.energy.2010.03.052



## IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE UNA PODREDUMBRE DE FRESA Y COMPROBACIÓN DE LOS POSTULADOS DE KOCH

Díaz González, Sandra

Tutores: Sacristán Benayas, M<sup>a</sup> Soledad

Departamento de Biotecnología – Biología Vegetal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid  
sandradiaggonzalez@gmail.com

### RESUMEN

El propósito fundamental de esta práctica era el de identificar el agente causal de una podredumbre de fresa, comprobando - los Postulados de Koch. Para ello, se desarrolló un estudio durante cuatro semanas en el que se realizaron distintas observaciones del patógeno tanto a la lupa como al microscopio, a la vez que se llevaban a cabo las comprobaciones para los postulados. A pesar de que se trabajó en condiciones de esterilidad, en una de las observaciones se detectó la presencia de un patógeno contaminante, por lo que se decidió proceder también a la identificación del mismo. A partir de una caracterización morfológica de ambos patógenos, tanto del causante de la enfermedad como del contaminante, se logró identificarlos. De esta manera, el patógeno contaminante fue identificado como *Rhizopus stolonifer* (Ehremb.) Lind., mientras que el patógeno original resultó ser *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. (Teleomorfo *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel). Asimismo, para este último se cumplieron los cuatro postulados de Koch llevados a cabo en el estudio, por lo que se confirmó que el agente causal para la podredumbre de fresa en cuestión era *Botrytis cinerea* Pers.: Fr.

**Palabras clave:** podredumbre, Postulados de Koch, *Botrytis*

### INTRODUCCION

La realización de esta práctica tuvo dos objetivos fundamentales: en primer lugar, identificar el patógeno que causaba la podredumbre de una fresa a partir de la caracterización morfológica del mismo mediante observaciones a la lupa y al microscopio y, en segundo lugar, comprobar que se cumplían los Postulados de Koch, para dicha enfermedad.

Robert Koch publicó sus postulados por primera vez en el año 1882 en un artículo sobre la etiología de la tuberculosis (Fuentes, 2007). Comenzó su búsqueda examinando pacientes tuberculosos para detectar la presencia de células de *Mycobacterium tuberculosis*. A partir de los resultados de sus ensayos enunció sus postulados:

1. El agente causal debe estar presente en todos los individuos enfermos.
2. El agente causal debe de aislarse de un individuo enfermo y cultivarse en un medio puro.
3. Cuando un cultivo puro del agente causal se inocula en un individuo sano susceptible, el huésped debe reproducir la enfermedad.
4. El mismo agente causal debe recobrase otra vez del individuo inoculado e infectado experimentalmente.

Sus postulados siguen siendo válidos en la actualidad y su cumplimiento proporciona pruebas irrefutables de que un agente patógeno en particular causa una determinada enfermedad, aunque no siempre pueden cumplirse y no sean la única vía para demostrar la etiología de una enfermedad (Ingraham et al., 1998).



## PROCEDIMIENTO

La práctica se llevó a cabo durante cuatro semanas siguiendo el siguiente procedimiento:

- 11 de febrero de 2014: En primer lugar, se procedió a la observación los signos del patógeno y los síntomas de la enfermedad a simple vista, seguidamente a la lupa y por último, al microscopio con una preparación en azul de metileno. Posteriormente, se verificó que el agente causal estuviera presente en todos los individuos enfermos de la población que, en este caso, serían las diferentes fresas enfermas de cada uno de los alumnos de la clase (primer postulado de Koch). Finalmente, se aisló el patógeno del individuo enfermo original inoculándolo en medio PDA (patata-dextrosa-agar) para su posterior observación, realizando así el segundo postulado de Koch.
- 20 de febrero de 2014: Tras nueve días de cultivo se observaron las estructuras del hongo cultivado en PDA la semana anterior a la lupa y al microscopio. Para comprobar el tercer postulado, se procedió a la inoculación del hongo en una fresa sin síntomas, e incubación en cámara húmeda, que consistía en una placa Petri en la que se colocó un papel de filtro empapado con agua estéril. Para evitar contaminaciones, se lavó la fresa con lejía y se utilizó una aguja esterilizada para la inoculación, que se realizó junto a una llama.
- 6 de marzo de 2014: Después de dos semanas en cámara húmeda, se volvieron a observar los signos del patógeno y síntomas de la enfermedad en la fresa inoculada. A pesar de las medidas tomadas para evitar la contaminación, apareció otro hongo diferente en la fresa inoculada que también se trató de identificar. Con el fin de llevar a cabo la comprobación del cuarto postulado de Koch, se puso el hongo inoculado en cultivo puro en medio PDA. De la misma forma, se aisló el hongo contaminante para poder identificarlo.
- 18 de marzo de 2014: Se volvieron a realizar observaciones a la lupa y al microscopio de las estructuras de los hongos aislados en cultivo puro con el fin de verificar si se cumplía el cuarto postulado e identificar el patógeno contaminante.

Caracterización morfológica e identificación de los patógenos:

A partir de las observaciones realizadas tanto a la lupa como al microscopio, se llevó a cabo una caracterización morfológica de los dos hongos observados que se detalla a continuación:

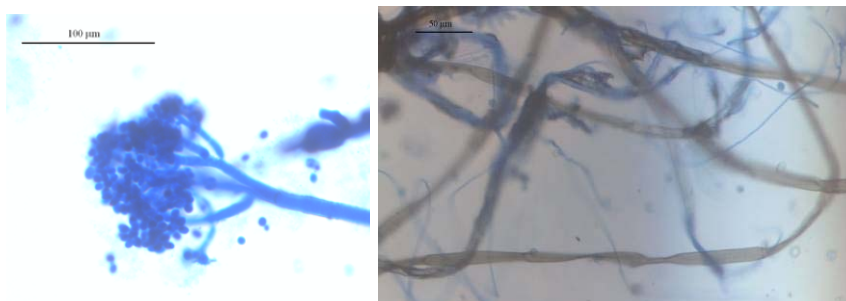
Posible patógeno original: Mediante la observación a la lupa, se confirmó que se trataba de un hongo, pues presentaba un micelio grisáceo con hifas oscuras, cilíndricas y de diámetro grueso, que terminaban en un racimo de esferas blancas, que reciben el nombre de conidias. La presencia de esta estructura, denominada conidióforo (Imagen 1), denotaba que había tenido lugar la esporulación. A partir de la observación al microscopio se advirtió un giro de 180° en las hifas, que se puede apreciar en la Imagen 1, a la vez que se caracterizaron los conidióforos, que resultaron septados, erectos, oscuros, simples al principio y ramificados en su extremo, siendo las últimas ramificaciones las que llevaban las conidias. Estas últimas eran ovales, unicelulares, hialinas y lisas. En la segunda observación, el hongo había formado esclerocios, unas estructuras macroscópicas altamente resistentes a periodos de condiciones desfavorables que consisten en una masa compacta de micelio endurecido con reservas alimenticias.

Según las características observadas, se determinó que el hongo presente en la fresa era *Botrytis cinerea* Pers. Fr. (Teleomorfo *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel), un hongo verdadero (perteneciente al Reino *Fungi*), División *Ascomycota*, Subdivisión *Pezizomycotina*, Orden *Helotiales*, Familia *Sclerotiniaceae* (von Arx, 1974). La fase



observada en este caso es el anamorfo (fase asexual) que se encuentra dentro del grupo *hyphomycetes*, pues se trata de una forma micelar que lleva conidias en hifas libres (Hibbet et al., 2007).

**Imagen 1. Conidióforo (a la izq.) e hifas giradas 180° (a la dcha.) del patógeno causal observados al microscopio.**



Fuente: Elaboración propia

Contaminante: En este caso, en la lupa se distinguían las hifas, que terminaban en una esfera de color negro de apariencia consistente llamada esporangio. El conjunto de hifa y esporangio se llama esporangióforo. En el extremo opuesto al esporangio, las hifas forman una estructura parecida a una raíz, llamada rizoide. Al microscopio, se pudieron diferenciar los esporangióforos (Imagen 2), que estaban formados por hifas no septadas y peridio, una membrana que encierra gran cantidad de esporangioesporas en su interior. Éstas eran redondeadas, de color marrón oscuro y de pared gruesa e irregular. También se pudieron observar zigosporas, esporas sexuales diploides producidas por la fusión de dos gametos morfológicamente iguales.

**Imagen 2. Esporangióforo del patógeno contaminante observado a la lupa.**



Fuente: Elaboración propia

A partir de las características observadas se estableció que se trataba de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill., un hongo verdadero perteneciente al reino *Fungi* y, Subdivisión *Mucoromycotina* (ex *Zygomycota*), pues contaba con un talo cenocítico, micelar y esporas asexuales sin flagelos producidas en esporangio (aplanosporas) y zigosporas (Hibbet et al., 2007). Se encuadró en el Orden *Mucorales* por sus esporangios terminales (Crous et al., 2009).

Comprobación de los postulados de Koch:

Con el fin de determinar si el hongo observado era la causa de la enfermedad, se llevó a cabo la comprobación de los Postulados de Koch, obteniéndose los siguientes resultados para cada uno de ellos:



- 1º “El agente causal debe estar presente en todos los individuos enfermos”: El patógeno causal se encontraba presente en todas las fresas utilizadas por todos los alumnos que realizaron la práctica.
- 2º “El agente causal debe aislarse de un individuo enfermo y cultivarse en un medio puro”: En un primer momento se tomó una muestra del patógeno y se cultivó en cultivo puro. En la segunda observación, los resultados obtenidos en cuanto a la caracterización de las estructuras del patógeno fueron idénticos a los de la primera.
- 3º “Cuando un cultivo puro del agente causal se inocula en un individuo sano susceptible, el huésped debe reproducir la enfermedad”: A partir del cultivo anterior se inoculó el patógeno en una fresa sana y se puso en cámara húmeda estéril. Dos semanas después, las observaciones tanto a la lupa como al microscopio del patógeno que se había desarrollado en la fresa inoculada mostraron las mismas estructuras que al inicio del ensayo en la fresa enferma original.
- 4º “El mismo agente causal debe recobrase otra vez del individuo inoculado e infectado experimentalmente”: Se aisló el patógeno causal de la fresa inoculada y se cultivó en medio puro donde, una semana después, se volvieron a observar las estructuras características del mismo.

### CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, se determinó que el hongo causante de la podredumbre en fresa era *Botrytis cinerea* Pers.: Fr., un hongo de alta capacidad infectiva y amplia gama de huéspedes, causante de la podredumbre gris pre y postcosecha. También puede causar lesiones normalmente pardas en diferentes órganos (hojas o flores) en pre-cosecha que se extienden con la humedad alta (de Andrés et al., 1998). Por otro lado, el hongo contaminante se identificó como *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill., conocido por causar podredumbre blanda, húmeda y de color marrón pálido en los frutos de muchos vegetales en post-cosecha, penetrando en el huésped a través de las heridas y desarrollándose en la madurez del fruto (de Andrés et al., 1998). Por último, tras comprobar los Postulados de Koch, se pudo afirmar que *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. es el patógeno causante de la podredumbre gris de la fresa.

### BIBLIOGRAFÍA

- Ainsworth & Bisby 2008. *Dictionary of the Fungi*. 10<sup>th</sup> Edition. CAB International. Wallingford, UK.
- Crous, P.W., Verkley, G.J.M., Groenewald, J.Z., Samson R.A. 2009. *Fungal Biodiversity*. Edition by CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- De Andrés, M.F.,- García – Arenal, F.,- López, M.M.,- Melgarejo, P. 1998. *Patógenos de plantas descritos en España*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Fuentes, C. 2007. *Los Postulados de Koch: revisión histórica y perspectiva actual*. Dpto. de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. Vol. 1 N° 2.
- Hibbet, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.f et al. 2007. *A higher – level phylogenetic classification of the Fungi*. Mycological Research. 111 (Pt 5): 509 – 47.
- Ingraham, J.L.; Ingraham, C.A. 1998. *Introducción a la Microbiología*. Tomo II. Editorial Reverté, S.A. Barcelona.
- Von Arx, J.A. 1974. *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*. Edition by A.R. Gantner verlag. Vaduz, Germany





## UNA SIEMBRA PARA EL FUTURO: DESPERTANDO VOCACIONES AGRONÓMICAS

Sanz Ortiz, Alejandro; Dorado Arco, Rocío

Tutores: Roquero García-Casal, Elvira; Pardo García, Elena  
*Departamento de Producción Agraria ETSIA Universidad Politécnica de Madrid*  
*Alejandro.sanz.ortiz@alumnos.upm.es rociodoradoarco@gmail.com*

### RESUMEN

AGRODÍA es un proyecto de Innovación Educativa de divulgación y captación de futuros estudiantes para los grados de ámbito agronómico en el que han participado más de 30 personas entre profesores, personal administrativo y de laboratorio, becarios de colaboración y voluntarios de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Este trabajo presenta el análisis de los resultados obtenidos del proyecto AGRODÍA, mediante más de 500 encuestas realizadas al término de cada taller/actividad. Los resultados indican que AGRODÍA es un proyecto llamativo, que consigue acercarse a los alumnos de bachillerato y promocionar la carrera de forma eficaz. Es necesario implantar a nivel institucional la celebración de sucesivas ediciones implicando a más áreas de conocimiento en dicho proyecto.

**Palabras clave:** AGRODÍA, encuesta, taller.

### INTRODUCCIÓN

La captación de alumnos se ha convertido en uno de los grandes caballos de batalla para los centros públicos en estos últimos tiempos. Actualmente solo en la Comunidad de Madrid se ofertan aproximadamente 500 grados distintos, repartidos todos ellos en un total de 15 Universidades. En este contexto se enmarca la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos donde los tres grados ligados al ámbito agronómico, y que dan acceso al máster habilitante, no requieren una nota superior a 5,0 para el acceso a la universidad. Esto se debe a que el número de matrículas efectivas por año es inferior a la oferta de plazas de enseñanza que tiene el centro. El trabajo realizado por el equipo de coordinación tuvo como objetivo promover la captación de alumnos mediante la promoción de los grados actualmente impartidos en el centro. Para ello se realizaron unas jornadas de puertas abiertas en el marco de un proyecto de innovación educativa denominado AGRODÍA. Estas jornadas consistieron en: i) Dos días de actividades y talleres con la participación de 598 alumnos de segundo curso de bachillerato correspondiente al ámbito científico-técnico, todos ellos encuestados. ii) 7 Itinerarios de talleres/actividades divididos en tres o cuatro talleres cada uno. iii) talleres/actividades agronómicas diferentes con la participación de más de 20 profesores del centro.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del proyecto, se realizaron distintos talleres/actividades. Cada taller guardaba relación con las asignaturas ofertadas en los grados y fueron organizados e impartidos por los profesionales académicos correspondientes a cada ámbito. En la Tabla 1 se describen los diez talleres realizados. Al término de cada taller se realizaron encuestas de evaluación. Tras la finalización de las jornadas se evaluó el grado de éxito del proyecto, el efecto que los talleres pueden tener sobre la difusión de los grados y se determinó la posibilidad de mantener el proyecto de cara a futuras ediciones.

**Tabla 1. Listado de actividades y talleres del proyecto AGRODÍA 2015.**

| Taller  | Descripción   |
|---|---|
| Lucha de titanes: insectos contra insectos                  | Ensayo de depredación de plagas. Los participantes disponían de un número determinado de insectos plagas así como de algunos de sus enemigos naturales, y podían comprobar “in situ” cómo los insectos depredan o parasitan a las plagas.   |
| Un mundo bajo tus pies                                      | Medida de propiedades físicas y químicas de diversos suelos y sustratos y su influencia en el suministro de agua y nutrientes. Selección de la tierra más adecuada para realizar el trasplante de un plantón.   |
| ¿Quién vive en los alimentos?                               | Descubrir la población microbiana que vive en los vegetales fermentados, como aceitunas y encurtidos. Observación microscópica “in situ” del caldo de fermentación. Mostrar cómo se aíslan y cultivan en el laboratorio estos microorganismos.  |
| Y...¿Cómo me compro un tractor?                             | Quiero comprar un tractor, pero tengo que pedir un préstamo ¿En cuánto tiempo lo devolveré? ¿A qué interés? ¿Cuánto pagaré cada mes? Análisis de costes.  |
| Un paseo por los sentidos                                   | Experimento sobre la percepción multimodal de los alimentos: influencia de unos sentidos en otros. Se realizaron tres talleres cortos en los que experimentaron una prueba sensorial a ciegas, con diferentes productos.  |
| ¿Juegan los cerdos?   | La ganadería intensiva se preocupa por el bienestar animal y la producción eficiente de muchos alimentos. Se realizaron test sencillos de evaluación del bienestar y el estudio del comportamiento de los cerdos en cebo.   |
| ¿Qué macho es el mejor?                                     | Valoración macroscópica y microscópica de distintas muestras de semen de conejo: establecieron la calidad de las células germinales de los diferentes machos. Estudiaron el material para inseminar a las hembras, la preparación y sujeción de las mismas.   |
| ¿Qué huevos comemos?  | Determinaron la calidad del huevo (peso, espesor de la cáscara, coloración de la yema, densidad del albumen), qué relación tiene con la formación del huevo en el ovario y oviducto, la estirpe, y edad de la gallina, el alojamiento, la iluminación, etc. Clasificación y etiquetado.                 |
| Biocombustibles: del campo al salón de casa                 | Recorrido por la instalación de producción de biocombustibles sólidos: la fase de acopio de biomasa cosechada, los distintos pretratamientos que sufre la biomasa (secado, reducción de tamaño, densificación) hasta que es utilizada en las calderas para producir calor en invierno y frío en verano. |
| Acercarse a las plantas con tacto, buen gusto y fino olfato | Utilización de los sentidos para aprender de plantas: tacto, gusto y olfato. Recorrido en el Aula Invernadero estudiando las distintas especies cultivadas y sus aplicaciones.  |

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de análisis de resultados se fundamenta en la transcripción de las encuestas y la comparación de los diferentes institutos participantes, itinerarios y talleres realizados. Las encuestas realizadas consistían en preguntas de respuestas tanto numéricas como cualitativas. Las preguntas pretendían evaluar el grado de satisfacción de los encuestados, el conocimiento de la Escuela y el interés suscitado por la actividad realizada. La escala utilizada para las preguntas numéricas se muestra en la Tabla 2.

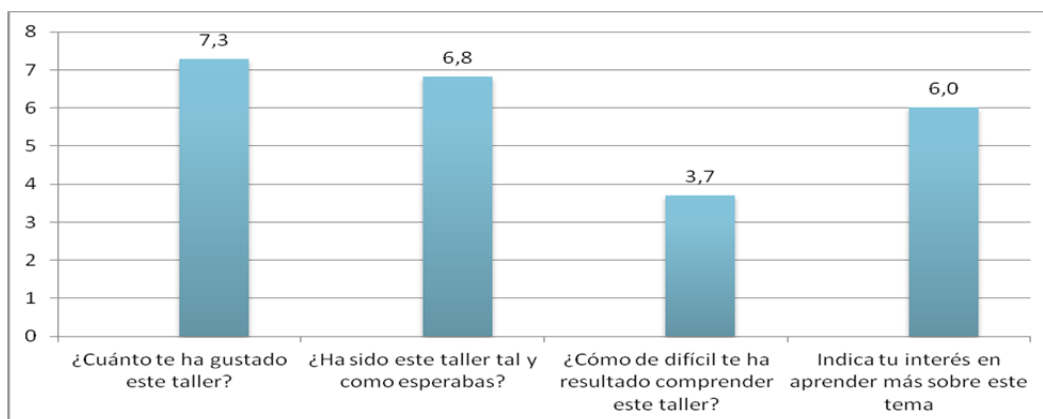
**Tabla 2. Escalas de valores utilizadas en las preguntas numéricas.**

| Escalas  | 1                             | 5                          | 9                                 |
|--|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| ¿Cuánto te ha gustado este taller?:                      | Me ha disgustado muchísimo    | Ni me gusta ni me disgusta | Me ha gustado muchísimo           |
| ¿Ha sido este taller tal y como esperabas?:              | Mucho peor de lo que esperaba | Tal y como esperaba        | Mucho mejor de lo que me esperaba |
| ¿Cómo de difícil te ha resultado comprender este taller? | Extremadamente fácil          | Ni fácil ni difícil        | Extremadamente difícil            |
| Indica tu interés en aprender más sobre este tema:       | No me interesa en absoluto    | No me importaría           | Me interesa muchísimo             |

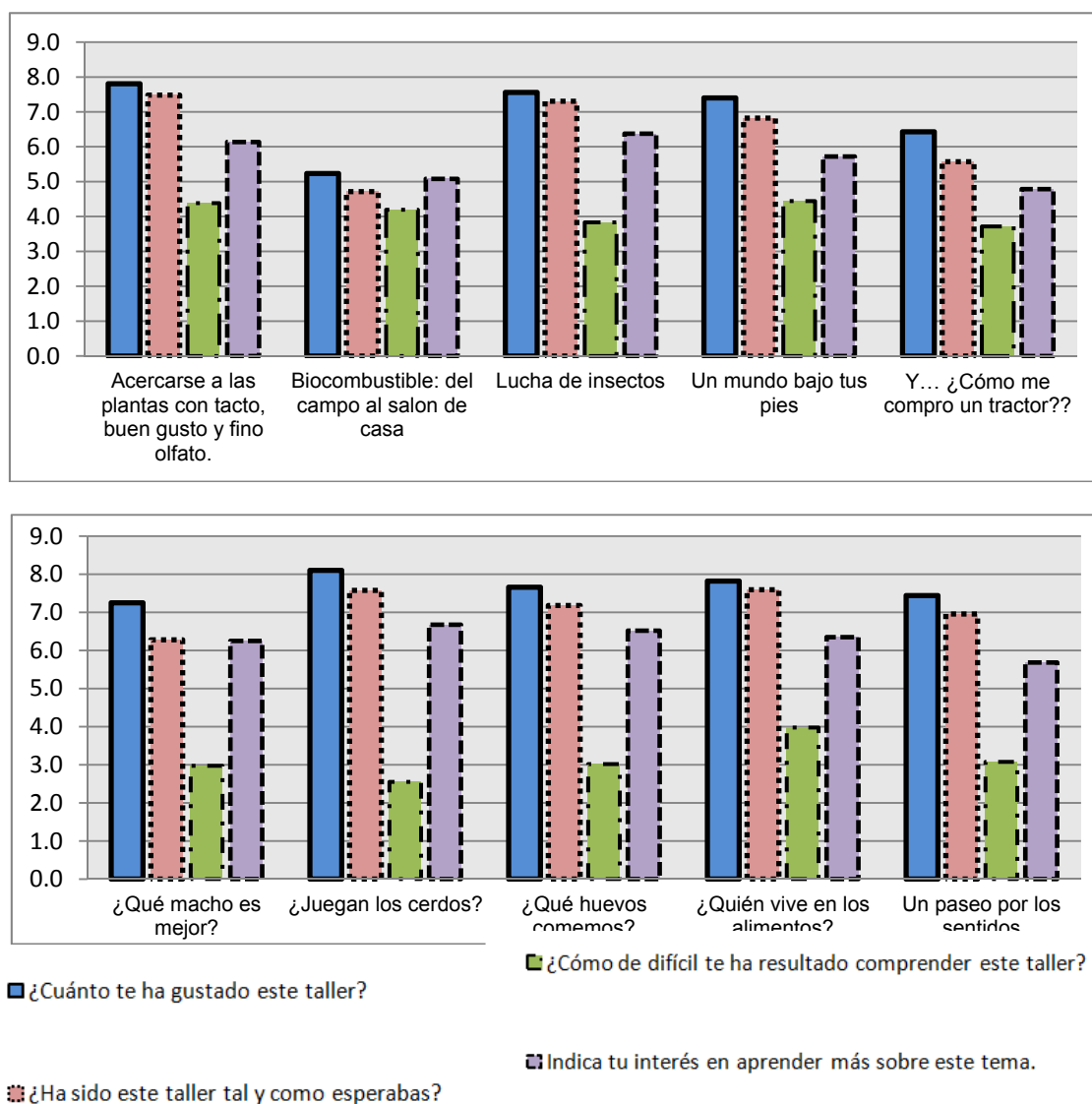
Los resultados de las preguntas numéricas se expresaron como el promedio para el total de los 598 encuestados (Figura 1). Por otra parte la figura 2 muestra los resultados obtenidos para las mismas cuatro preguntas, diferenciando los resultados por talleres.



**Figura 1. Resultado promedio de todos los talleres para las preguntas numéricas comunes.**



**Figura 2. Resultado promedio por taller.**

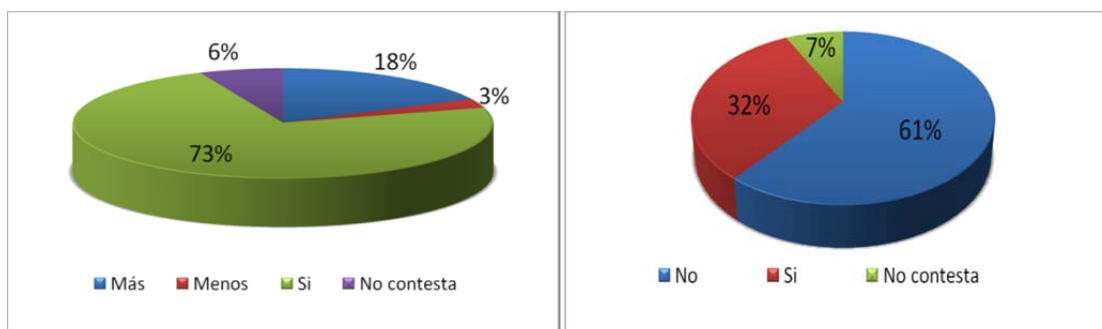




Los resultados generales reflejan que, según la escala de valores dada, los talleres tuvieron una gran aceptación. Además las actividades propuestas consiguieron superar las expectativas previas a la realización del taller.

Con respecto a la dificultad en el seguimiento del taller, de forma general los encuestados consideraron que fue fácil realizar el taller y seguir las explicaciones de los profesores. En cuanto al interés mostrado por ampliar el conocimiento en el futuro, los resultados de las encuestas revelan un cierto grado de interés en profundizar las materias relacionadas con el taller. Las preguntas de valoración cualitativa estaban destinadas a conocer la opinión sobre la duración de los talleres y el grado de conocimiento previo acerca de las titulaciones impartidas en la Escuela. La figura 3 muestra que el 73% de los encuestados coinciden en que el tiempo dedicado a cada taller fue el adecuado (destacando que al 18% les hubiera gustado profundizar más en la actividad) y que las materias actualmente impartidas en la Escuela eran desconocidas para el 61%. Este último dato es muy significativo a la hora de valorar el grado desconocimiento de los grados por parte de los alumnos potenciales.

**Figura 3. Satisfacción por el tiempo dedicado al taller (izda.) y grado de conocimiento de las materias impartidas en la Escuela Técnica de Ingenieros Agrónomos (derecha).**



## CONCLUSIONES

La primera edición del proyecto AGRODÍA ha supuesto un gran éxito en cuanto a participación. Los 598 encuestados, en los dos días de realización del proyecto, reflejó la gran acogida por los centros y el interés que este tipo de actividades despierta. Por otra parte, el grado de satisfacción de los encuestados indica que la actividad ha sido un medio favorable y diferente para dar a conocer los grados enfocados al ámbito agronómico. AGRODÍA es una buena manera de poner en contacto a alumnos de bachillerato con la Universidad, siendo un gran reclamo para los centros y los futuros estudiantes. Un dato muy significativo es el alto grado de desconocimiento por parte de los encuestados de las asignaturas o estudios que se imparten en la escuela. Este hecho determina que la carrera de ingeniero agrónomo sea desconocida por la gran mayoría de los alumnos de bachillerato y, por consiguiente, no es tenida en cuenta a la hora de matricularse en la Universidad. Como conclusión final destacar que AGRODÍA es un proyecto llamativo, que consigue acercarse a los alumnos de bachillerato y promocionar la carrera de forma eficaz. Es necesario implantar a nivel institucional la celebración de sucesivas ediciones implicando a más áreas de conocimiento en dicho proyecto. Esto permitiría desarrollar el proyecto de forma significativa y conseguir revalorizar la imagen que tienen actualmente los grados de ámbito agronómico.

## AGRADECIMIENTOS

P.L. Aguado Cortijo, M. Alvir Morencos, M. Bañuelos Bernabé, M.F. Budía Marigil, E. Cadahia Fernández, C. Chaya Romero, P. García Rebollar, I. Mariscal Sancho, J. Massana Guitart, A. Mateos San Juan, M.P. Medina Vélez, S. Moreno Vázquez, N. Nicodemus Martín, I. Ovejero Rubio, J. Pérez Arias, A.T. Pérez López, B.A. Villa Pérez, A. Villa Vidaror, M.J. Villamide Díaz

## **SESIÓN C2**





## MANEJO, ALIMENTACIÓN Y MEJORA GENÉTICA DEL REBAÑO DE CABRAS DE LA MISIÓN DE TODONYANG, DIÓCESIS DE LODWAR (TURKANA, KENIA)

Morera Martínez, Carmen

Tutores: Martínez Ros, Paula<sup>1</sup> ; Buxadé Carbó, Carlos<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Producción Animal, Sanidad Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia.*

<sup>2</sup>*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*  
Correo electrónico (Autor): carmen.morera.martínez@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Las prácticas formativas, objeto de este trabajo, están integradas en el programa “Mejora de la productividad y sanidad del ganado caprino” que la Comunidad Misionera de San Pablo Apóstol (MCSPA), en colaboración con otras entidades, desarrolla en la región Turkana de Kenia, con el objetivo de mejorar el estado nutricional de la población autóctona, reducir la sobreexplotación del terreno y los conflictos por los recursos.

Este programa pretende aumentar la producción de leche por animal a través de la mejora genética de la cabaña caprina, obteniendo un núcleo de hembras mejoradas en producción, pero adaptadas igualmente a la orografía y a la climatología de la zona (F1), producto del cruzamiento entre la raza autóctona turkana de aptitud cárnica y la raza española murciano-granadina de aptitud lechera. Las prácticas se centraron en el manejo, alimentación, sincronización de celos mediante técnicas hormonales y posterior inseminación artificial (IA) del rebaño.

**Palabras clave:** *hembras mejoradas, sincronización de celos, inseminación artificial.*

### INTRODUCCIÓN

En la Misión de Todonyang (Turkana Norte, Kenia), perteneciente a la Comunidad Misionera de San Pablo Apóstol (MCSPA), se encuentra el rebaño de cabras autóctonas a partir del cual el programa “Mejora de la productividad y sanidad del ganado caprino” pretende crear una primera generación (F1) de hembras mejoradas, producto del cruzamiento entre la raza autóctona turkana de aptitud cárnica (Martínez Ros, 2013-2014) y la raza española murciano-granadina de aptitud lechera (ACRIMUR), mediante campañas de inseminación artificial (IA) anuales.

Las prácticas que se presentan en éste trabajo, realizadas durante los meses de Octubre y Noviembre del año 2014, consistieron en llevar a cabo la segunda campaña de inseminaciones del rebaño de la Misión de Todonyang.

### CAMPAÑAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

El rebaño de la Misión de Todonyang se formó en Febrero de 2014 tras evaluarse las experiencias de inseminación artificial (IA) anteriormente llevadas a cabo en la región de Turkana, por la MCSPA y las entidades colaboradoras del programa. Desde entonces el programa dispone de un rebaño propio, a partir del cual se trabaja para crear el núcleo de cabras mejoradas (F1).

La fracción principal de alimento del rebaño procede del pastoreo y ramoneo que el rebaño realiza en las praderas de alrededor de la Misión, que son de tipo semidesértico. No se suministra ningún tipo de ración compuesta, aunque ocasionalmente, los desechos procedentes de la huerta de la Misión se destinan a la alimentación del rebaño.

En el momento de su formación, el rebaño estaba compuesto por 66 hembras de la raza autóctona turkana. Los profesores y estudiantes de la Facultad de Veterinaria de la



Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia evaluaron el estado sanitario de la base animal, y posteriormente, se procedió a llevar a cabo la primera campaña de inseminación artificial (IA), en la que se inseminó un total de 59 animales (Martínez Ros, 2013-2014).

La paridera correspondiente a esta primera campaña de IA de Febrero de 2014, tuvo lugar en el mes de Julio de 2014.

La información referente a ésta paridera fue corregida en el mes de Octubre de 2014 ya que el registro de nacimientos en el mes de Julio de 2014 no se realizó correctamente (Tabla 1).

**Tabla 1. Resultados de la primera campaña de inseminación artificial (IA) (Febrero de 2014) del rebaño de Todonyang.**

| Rebaño                     | Resultados      | (%) Cabras lote inseminadas | (%) Cabras del rebaño |
|----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------|
| Nº cabras sincronizadas    | 50 <sup>1</sup> | 79,7 <sup>2</sup>           | 75,8                  |
| Nº cabras inseminadas      | 59 <sup>2</sup> | 100                         | 89,4                  |
| Nº cabras paridas totales  | 5 <sup>3</sup>  |                             | 7,6                   |
| Nº cabras paridas (IA)     | 4               | 6,8                         | 6                     |
| Nº cabras total            | 66              |                             | 100                   |
| Nacidos vivos totales      | 5               |                             |                       |
| Nacidos vivos (F1)         | 4               |                             |                       |
| Nacidos vivos (hembras F1) | 4               |                             |                       |
| Destetados totales         | 5               |                             |                       |
| Destetados (F1)            | 4               |                             |                       |
| Destetados (hembras F1)    | 4               |                             |                       |

1: Todos los animales de edad igual o superior a dos años., 2: Doce cabras del lote de hembras no sincronizadas fueron incorporadas al lote de inseminación y tres cabras del lote de las sincronizadas finalmente no se inseminaron., 3: Paridera correspondiente a Julio de 2014.

En el mes de Octubre de 2014, en el transcurso de las prácticas aquí descritas, se llevó a cabo la segunda campaña de inseminación artificial (IA) del rebaño. En este momento, la Misión contaba con el rebaño de hembras del programa (formado por 87 hembras en ese momento), los chivos de la paridera de Julio de 2014 y un rebaño de machos de la raza autóctona turkana (criados para consumo de carne) (Tabla 2).

**Tabla 2. Registro de ganado caprino de la Misión de Todonyang (Octubre 2014).**

| Ganado                          | Nº animales     |
|---------------------------------|-----------------|
| Hembras del rebaño inicial      | 63 <sup>1</sup> |
| Hembras nuevas <sup>2</sup>     | 24 <sup>3</sup> |
| Hembras totales                 | 87 <sup>4</sup> |
| Hembras totales presentes       | 86              |
| Chivos (Paridera de Julio 2014) | 5               |
| Machos                          | 23              |

1: Tres cabras murieron en el periodo Febrero-Octubre 2014., 2: No se analizó el estado sanitario de estos animales antes de incorporarse al rebaño del programa.,

3: Cabras de origen desconocido (11), adquiridas en la misión de Lobur (12) y Lodwar (1). 4: Una cabra perteneciente al rebaño inicial de Febrero 2014 no fue encontrada,





La presencia de machos autóctonos no castrados en la Misión, la falta de instalaciones y de formación de la mano de obra (MO), así como un manejo inadecuado del rebaño de hembras entre los meses de Febrero y Octubre de 2014, (no separadas de los machos con la rigurosidad que se hubiese requerido), tuvieron como consecuencia la presencia de 17 cabras preñadas (por los machos autóctonos) dentro del rebaño. Ante esta situación, fue necesario realizar labores de gestión y manejo del rebaño antes de iniciarse la campaña de inseminaciones (Tabla 3).

**Tabla 3. Actividades de gestión y manejo llevadas a cabo en la Misión de Todonyang (Octubre 2014).**

| Actividad   | Técnica/Método                             | Observaciones  |
|---|--|--|
| Identificación de animales                              | Tatuaje en oreja                           | Animales sin identificar <sup>1</sup>                  |
| Valoración de la condición corporal (CC) y lotificación | Observación y palpación <sup>2</sup>       | dos lotes <sup>3</sup>                                 |
| Diagnóstico de gestación                                | Tradicional <sup>4</sup>                   | 17 cabras gestantes                                    |
| Manejo paridera   | Registro de nacimientos                    | Mortalidad elevada <sup>5</sup> y abortos <sup>6</sup> |
| Seguimiento del rebaño                                  | Observación, control y registro del rebaño | Difícil manejo <sup>7</sup>                            |
| Registro de información y transferencia de resultados   | Elaboración de documentos y difusión       | Muy útil <sup>8</sup>                                  |
| Inventario de material                                  | Elaboración de documentos y difusión       |  |
| Formación de la Mano de Obra (MO)                       | Teórico y práctico                         | Necesario traductor                                    |

1: Animales del rebaño inicial (66 hembras) sin identificar por pérdida de las pulseras numeradas o trozos de oreja (no tatuaje)., 2: De la región esternal y lumbar., 3:

Cabras "a sincronizar" y cabras "a no sincronizar", considerando la CC, el estado de los animales (lactación /no lactación) y la edad., 4: Palpación de ubre y abdomen y observación de la vagina., 5: Posible mortalidad al nacimiento por falta de espacio (aplastamientos) y por el manejo de las hembras gestantes., 6: Puede deberse a la presencia de *Brucella abortus* y al manejo de las hembras gestantes., 7: Por falta de instalaciones y mano de obra (MO)., 8: Anteriormente información dispersa y errónea.

La segunda campaña de IA se realizó entre los días 17 y 30 de Octubre de 2014, en ella se sincronizó el celo de 70 animales (las 17 hembras detectadas como preñadas por los machos autóctonos y las 53 cabras que finalmente se inseminaron) y se siguió el mismo protocolo que en la primera campaña de IA de Febrero de 2014. El protocolo consistió en 11 días de sincronización de estros, combinando la aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con 20 mg de acetato de fluorogestona (Chronogest®, Laboratorios Intervet, S.A., España), desde el día 1 hasta el día 11 de campaña, con la inyección intramuscular de 300 IU de prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) (PROSYL®, Labiana Life Sciences, S.A., España) y 1ml de gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG)(FOLIGON®, Laboratorios Intervet, S.A., España) a cada animal el día 9 de campaña.

Finalmente, el día 13 de campaña, habiendo transcurrido 44-46 horas desde la retirada de las esponjas, se realizó la inseminación artificial (IA), aplicándose una dosis de semen de la raza española murciano-granadina a cada animal. Las dosis de semen estaban conservadas en nitrógeno líquido a -180°C, por lo que fueron previamente descongeladas a 34°C durante 30 segundos, en un descongelador de pajuelas (Tabla 4) (Martínez Ros, 2013-2014).

Cabe destacar que el proceso de sincronización de celos coincidió con la "estación de lluvias corta" de la región, en el que se vieron aumentados los recursos pastables.

**Tabla 4. Protocolo de operaciones de la segunda campaña de inseminación artificial (IA) (Octubre 2014).**

| Fecha              | Día de campaña | Actividad                              | Resultados (nº de cabras) | (%) Cabras del lote a sincronizar | (%) Cabras del rebaño <sup>1</sup> |
|--------------------|----------------|--|---------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 17 de Octubre 2014 | 1              | Colocación de esponjas intravaginales  | 70                        | 100                               | 81,4                               |
| 26 de Octubre 2014 | 9              | Inyección intramuscular de PG2α y PMSG | 70                        | 100                               | 81,4                               |
| 28 de Octubre 2014 | 11             | Retirada de esponjas                   | 54 <sup>2</sup>           | 77,1                              | 62,8                               |
| 30 de Octubre 2014 | 13             | Inseminación artificial(IA)            | 53                        | 75,7                              | 61,6                               |

1: Ochenta y seis cabras presentes en el rebaño., 2: Dieciséis cabras perdieron la esponja

## CONCLUSIONES

La ausencia de muestras representativas (sólo dos campañas de inseminación artificial) y la dispersión de información, consecuencia de un registro inadecuado de los animales, entre otros factores, dificultan la comparación de resultados.

El hecho de haber corregido el registro de nacimientos de la primera campaña de IA tres meses después de la paridera da lugar a la introducción de posibles errores en los resultados (desconocimiento del número exacto de nacidos vivos y muertos, posibles adopciones, número exacto de cabras paridas...)

Se espera que se refleje en los resultados de la segunda campaña de IA (paridera de Marzo 2014), el efecto de una adecuada sincronización del rebaño (se observó el celo), así como un posible efecto “flushing corto”, consecuencia del aumento de recursos pastables, acontecido durante la sincronización de celos y previo a la inseminación artificial (Buxadé, 1996; Daza, 2004).

## AGRADECIMIENTOS

Departamento de Producción Agraria de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA), Vicerrectorado de Relaciones Internacionales de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Facultad de Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia, Misión de Todonyang y Comunidad Misionera de San Pablo Apóstol (MCSPA), Diócesis de Lodwar (DOL), empresas españolas “OVIGEN”, “Laboratorios Merial”, “Humeco” y particulares colaboradores en el programa.

## BIBLIOGRAFÍA

- ACRIMUR (Asociación Española de Criadores de la Cabra Murciano-Granadina).Sitio web: [www.acrimur.es](http://www.acrimur.es) (Fecha de consulta: 25 de Marzo de 2015).
- Aguirre Herrera F., 2013.Pastoralist conflict in the Horn of Africa.Paulines Publications Africa.pp 128
- Buxadé Carbó C., 1996. Producción caprina. En Zootecnia bases de producción animal (vol.9, pp. 85-100)
- Buxadé Carbó C., 2010 .Claves en el diseño de los alojamientos e instalaciones .*Mundo Ganadero*, 231,66-69.
- Daza A., Fernández C., Sánchez A., 2004. Ganado caprino: producción, alimentación y sanidad. pp. 49-72.
- Martínez Ros P., 2013-2014.Material didáctico elaborado específicamente para el programa. Facultad de Veterinaria de la Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia.
- Tawah L.,1998.En: *Proceedings of the Research and Training Strategies for Goat Production Systems in South Africa Workshop*, Hogsback, Eastern Cape, South Africa,pp.11-13.



## STAR DUST MEMORIES, OR HOW TO DETECT ALLERGEN TRACES IN POWDER FOODS

Mohamad, Siti Nur Hidayah; Ghosh, Satyabrata; Mishra, Puneet

Tutores: Barreiro, Pilar; Diezma-Iglesias, Belén

Departamento de Ingeniería Rural. E.T. S.I Agrónomos, Avda. Complutense s/n Universidad Politécnica de Madrid (UPM), CEI Moncloa, 28040 Madrid, Spain.

ctnh\_my@yahoo.com

### ABSTRACT

Allergies and food intolerances are at the forefront of institutional interest (European Regulation No 1169/2011) for their impact on consumer health. Allergies to peanuts and other nuts and gluten intolerance, makes production processes involving mixtures of powders a great concern for the industry, given the need to indicate the existence of traces of any of them. The food industry requires non-destructive and non-invasive methods of quantification that meet sensitivity requirements but also specificity levels. Optical methods such as NIR spectrophotometry or hyper-spectral image are currently some of the technologies that show potential success. This is the context of this paper that evaluates how to use NIR spectroscopy (900-1600nm) to detect traces of 15 different kinds of nuts and 20 other flours.

**Keywords:** *Food allergen, Hyper-spectral image, NIR spectra, Chemometry, Nuts*

### INTRODUCTION

Nuts in general are concentrated sources of dietary energy, as well as sources of unsaturated fatty acids, various micronutrients, and fiber (Gray, 2013). However, over recent decades they have increasingly been found to induce adverse health effects with allergenic reactions. Allergenic conditions arising from the consumption of nuts is generally thought to be life long and typically severe (Fleischer et al., 2005). The need for recognition of allergies has been rising in the industrialized world since the middle of the last century. No definite treatment is yet available for nut and seed allergies (Willison et al., 2014). The major allergenic compounds in tree nuts, like peanuts and other seeds, have been identified as seed storage proteins (Kulis, 2011). Two commonly used detection methods are Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Platteau et al., 2011) and Real Time Polymerase Chain Reaction (RT PCR) (López-Calleja et al., 2013). However, these methods are costly, and require time and chemical experimental skills, which make them difficult to implement in food manufacturing processes. Dietary avoidance is the primary strategy used to avoid these allergies and requires the ability to identify peanuts or tree nuts (Hostetler et al., 2012). On the other hand, manufacturing industries dealing with the processing of multiple powder food products present a substantial risk for the contamination of powder foods with traces of tree nuts and other adulterants. Such cross contamination might result in unintentional ingestion of nuts by sensitized consumers. The need for an in-line system to detect nut traces at the early stages of food manufacturing is thus crucial for both people allergic to nuts and food manufacturers. Current food and beverage applications of NIR are dominated by proximate quality assessment, and research focused on this aspect of near infrared analysis is very active. The method is relatively inexpensive, rapid, preserves the sample and is able to measure several constituents concurrently. The objective of this research is to specify different flours and nuts using NIR spectroscopy.



## MATERIAL AND METHODS

Fifty samples of nuts and flours from different origins were bought from a grocery store in Madrid, Spain (Table 1). Three grams of each sample was weighed and put into a round plastic container for spectroscopic measurement. The sample was pressed with a Chatillon (DISMAE, Model-DPP) to achieve 1.41 kg / cm<sup>2</sup> (or 98 N with a 30 mm flat plate), to make it compact and produce an even surface. Near Infrared (NIR) spectral measurements were made using a Hamamatsu photonic multi-channel spectrometer (Japan): C7473 and PMA-1 respectively. The detector is a 10 mm In Ga As type, usable in the wave length range between 900 nm and 1600 nm.

**Table 1. Different nuts and flour samples used for analysis. The presence of gluten and origin is indicated; for flours w stands for the power level.**

| Powder products         |           |                                |           |
|-------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|
| <b>With Gluten</b>      |           | Ground nuts                    |           |
| <b>Spelt Integral</b>   | Spain     | California Almond without skin | USA       |
| <b>Persian Integral</b> | Spain     | Walnut Eco                     | Spain     |
| <b>Wheat 80-120W</b>    | Spain     | Raw Cashew                     | India     |
| <b>Persian</b>          | Spain     | California Almond with skin    | USA       |
| <b>Barley</b>           | Spain     | Common Almond                  | Spain     |
| <b>Wheat 120-140W</b>   | Spain     | Almond                         | Spain     |
| <b>Spelt</b>            | Spain     | Marcona organic almond         | Spain     |
| <b>Oats Integral</b>    | Catalunya | Walnut                         | Chile     |
| <b>Wheat 300-380W</b>   | Spain     | Eco hazelnut                   | Spain     |
| <b>Wheat 220-260W</b>   | Spain     | Pecan nut                      | Unknown   |
| <b>Rye</b>              | Spain     | Macadamia                      | Australia |
| <b>Wheat Integral</b>   | Spain     | Walnut                         | Usa       |
| <b>Rye Integral</b>     | Spain     | Peanuts with skin              | Argentina |
| <b>Wheat 350-400W</b>   | Spain     | Pistachio with skin            | Unknown   |
| <b>Without Gluten</b>   |           | Pine nuts                      | Spain     |
| Golden flax             | Ukraine   | Blanching pistachio            | Iran      |
| Grits rice Integral     | Spain     | Pine nuts                      | China     |
| Toasted soy             | China     | Coquito nuts                   | Brazil    |
| Brown flax              | Italy     | Peanut without skin            | Argentina |
| Soy                     | China     | Sunflower seed                 | USA       |
| Cassava                 | Brazil    |                                |           |
| Corn                    | Italy     |                                |           |
| Buckwheat               | Holland   |                                |           |
| Chickpea flour          | Turkey    |                                |           |
| Toasted Sesame          | Unknown   |                                |           |
| Rice                    | Spain     |                                |           |
| Poppy seed              | Unknown   |                                |           |
| Sesame                  | Unknown   |                                |           |
| Chia                    | Unknown   |                                |           |
| Rapeseed                | Spain     |                                |           |

Spectral data were collected using Hamamatsu software. The room temperature during the measurements was kept steady between 21°C and 23°C. The instrument was calibrated with a white reference (barium sulphate plate) and dark current spectra were taken before acquiring measurements of the samples, and then the relative reflectance was computed subtracting the dark current from each raw spectrum and dividing the result by the white reference minus the dark current spectrum. NIR spectra were focused on the sample, where it would penetrate and interact with the sample, and then be reflected.



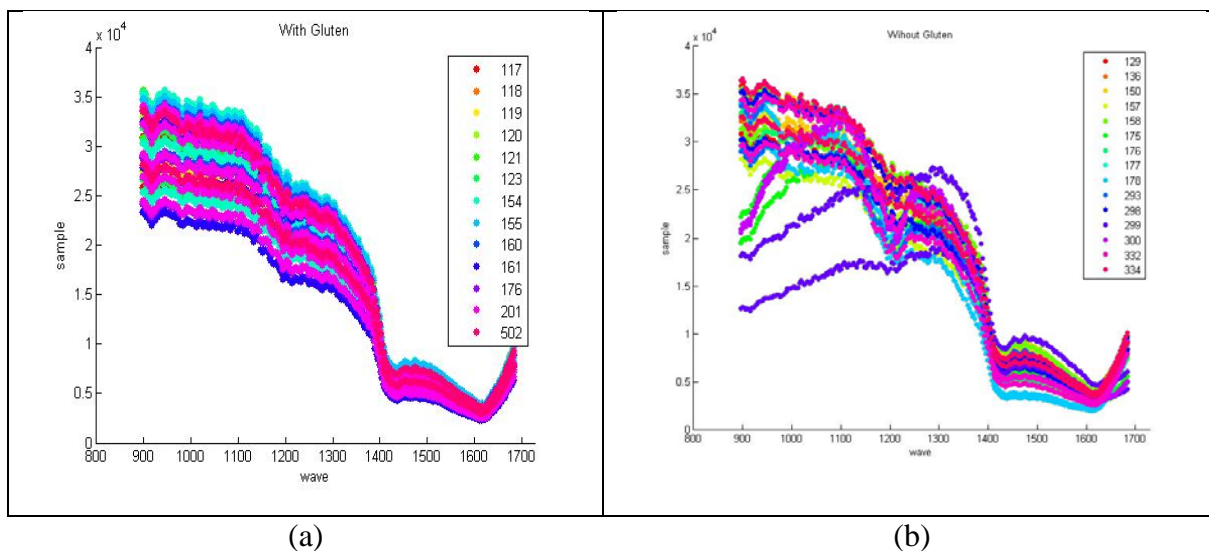
Spectral data were collected for three replicates at different levels of intensity for all types of the samples. NIR spectral data were analyzed using Matlab R2013 software. PCA analysis was performed on the data for the sample to develop the separation between the samples.

## RESULTS AND DISCUSSION

Strong NIR absorption bands near 1400 nm - 1440 nm have often been applied to the quantitative analysis of water concentration in foods. Absorption bands at 1454 nm are related with O-H stretch overtone bond. Figure 1 (a) and (b) show the representative graphs of raw NIR spectra for gluten flours and non-gluten powders including different nuts. The spectral signature for lipids (around 1100 nm – 1300 nm) can be seen in Figure 1(b) which have a deeper valley than Figure 1(a), showing the occurrence of lipids. Some absorbance bands occur in Figure 1(b) but not in 1(a) at 1210 and 1220 nm; and 1420nm and 1430nm correspond to the oil content and protein respectively (William and Noris.,1987).

Figure 2 shows the plot of PCA 2 vs PCA 3 for the nuts (green squares) and flour (red dots) samples. It can be seen that, flours samples are well separated from nuts and located opposite one another. With help of PCA, NIR can classify nuts and flour samples based on chemical compositions differences such as the protein, fiber and lipid contents. The nuts with more protein and more fiber are scattered towards the right side (having higher value for PC2), otherwise it will scattered towards the left side (lower value for PC2). The fatty acid composition for different nuts is unique leading to more dispersion in PC plot (larger area covered by green dots), as can be seen for the nuts as compared to flour (red circles). Peanuts are grouped together within the nut area, which means that discriminant functions can be trained as to guarantee specificity in detection of allergens (not all nuts promote an allergenic reaction).

**Figure 1. Raw spectra of NIR for (a) samples with gluten and (b) samples without gluten**



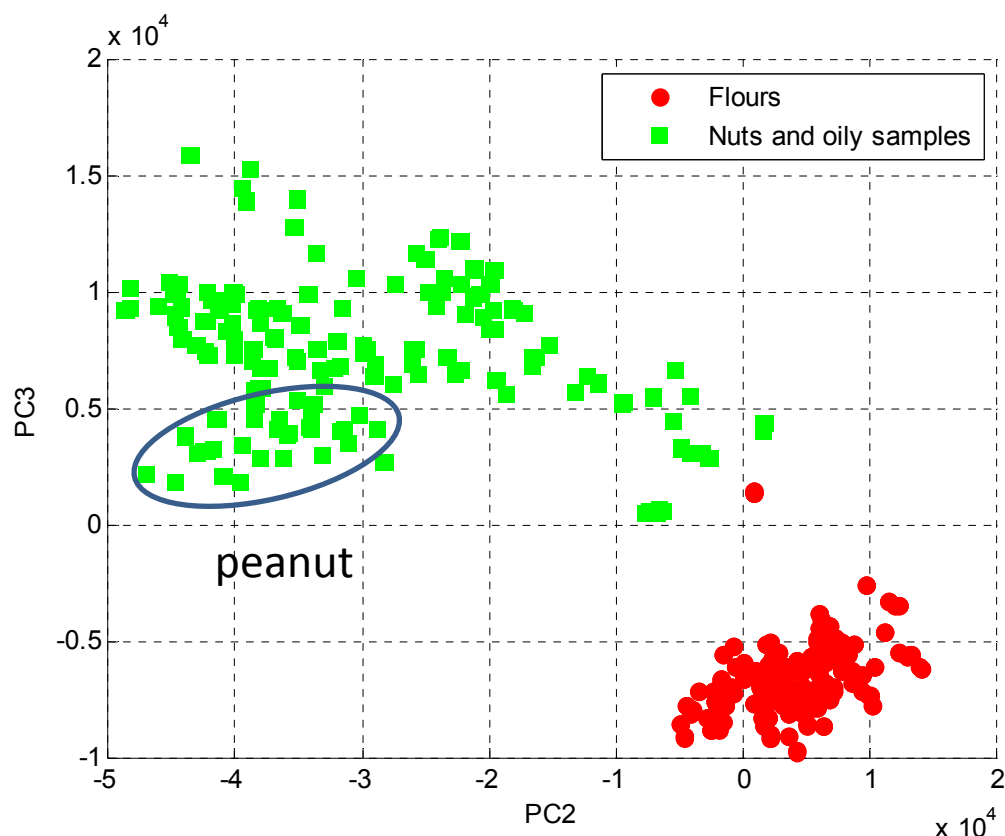
## CONCLUSIONS

NIR reflectance spectroscopy combined with PCA could be a useful tool for the analysis of adulteration of nuts in the powders. The PCA is a promising approach for segregation between the nuts and flours. NIR measurements are procedurally simple and can considerably reduce the time required for measurements with the specific results. The use of NIR spectroscopy described in this paper would effectively specify the component in



the powder, thus detecting the adulteration of the powder by nuts. At present, more work is needed to be done for differentiate between flours and nuts.

Figure 2. PCA 2 against PCA 3



#### ACKNOWLEDGEMENT

Authors gratefully acknowledge the department of rural engineering for the equipment excess and thanks to the supervisors for their help and guidance throughout the experiment. Siti Nur Hidayah Mohamad is a recipient of Erasmus Mundus scholarship for Malaysian PhD students to carry out research at European Universities while Satyabrata Ghosh and Puneet Mishra are recipient of a fellowship from Erasmus Mundus (Idea project).

#### REFERENCES

- Gray, J. 2013, *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)*, ed. B. Caballero, Academic Press, Waltham, pp. 329-335.
- Fleischer, D.M., Conover-Walker, M.K., Matsui, E.C. & Wood, R.A. 2005, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 116, no. 5, pp. 1087-1093.
- Willison, L.N., Sathe, S.K. & Roux, K.H. 2014, "Production and analysis of recombinant tree nut allergens", *Methods*, vol. 66, no. 1, pp. 34-43.
- Kulis, M., Li, Y., Lane, H., Pons, L. & Burks, W. 2011 *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 127, no. 1, pp. 81-88.
- Platteau, C., De Loose, M., De Meulenaer, B. & Taverniers, I. 2011. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59, 10803-10814.
- López-Calleja IM, de la Cruz S, Pegels N, González I, García T & Martín R. 2013. *Food Control*, 30, 480-490.
- Hostettler, T.L., Hostettler, S.G., Phillips, G. & Martin, B.L. 2012, *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, vol. 108, no. 1, pp. 25-29.
- Williams, P.C. and K.H. Norris 1987, Near Infrared Technology in the agricultural and food Industries, 241-246



## CARACTERIZACIÓN PRODUCTIVA DE LA RAZA DE CONEJOS "CONILL PAGÈS D'EIVISSA"

Alonso, Alba; Velasco, Beatriz; Formoso-Rafferty, Nora

Tutor: Rebollar, Pilar G., Rodríguez, María

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

alba.alonsom@alumnos.upm.es;beatrizvmunoz@hotmail.com;n\_fr\_c@hotmail.com

### RESUMEN

El conejo ibicenco (conill pagès d'Eivissa) es una raza en peligro de extinción. En este trabajo se han estudiado y comparado los parámetros productivos de este animal sometido a un manejo reproductivo similar al que se realiza en explotaciones ganaderas con el híbrido comercial. Por ello, se ha comparado su fertilidad, prolificidad, producción de leche, ganancias de peso, consumo de pienso, índice de conversión y mortalidad, tanto en fase de lactación como en cebo. Como cabía esperar, estos parámetros son peores que los del híbrido comercial, no obstante, se adaptan bien a las condiciones de las explotaciones cunícolas actuales pudiéndose mantener de este modo la diversidad genética.

**Palabras clave:** conejo ibicenco, prolificidad, ganancia media diaria.

### INTRODUCCIÓN

Las poblaciones autóctonas de especies ganaderas han sufrido una severa recesión a lo largo del pasado siglo, suponiendo la pérdida de importantes patrimonios genéticos y culturales. El diseño del programa de conservación de la población de conejo ibicenco (conill pagès d'Eivissa) incluye: a) la caracterización reproductiva, b) el análisis de la estructura genética de la población mediante la creación y estudio de su libro genealógico, y c) el análisis de su productividad, así como de la calidad de la canal y de la carne en busca de un nicho comercial (Martín de la Rosa *et al.*, 2013). El objetivo de este trabajo fue abordar una parte del último apartado, estudiando parámetros productivos (fertilidad, prolificidad, crecimiento, consumo de pienso, producción de leche, ganancia media diaria, índice de conversión y mortalidad) en lactación y cebo de conejos de raza ibicenca criados en las mismas condiciones de alimentación y manejo que un híbrido comercial.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Pecuaria del Departamento de Producción Agraria de la E.T.S.I. Agrónomos de la UPM. Un total de 72 conejas híbridas (Neozelandés blanco x Californiano) y 16 conejas ibicencas (conill pagès d'Eivissa), se distribuyeron en jaulas individuales bajo condiciones ambientales controladas (temperatura 20-22°C, 16HL/8HO). En el momento de iniciar el trabajo, todas las conejas eran múltiparas con un año de edad y con un mínimo de 2 partos. Se inseminaron con una mezcla de eyaculados recogidos de machos de cada raza, utilizando dosis seminales de 20 millones de espermatozoides diluidas en 0,5 ml de un diluyente comercial (Cudil, Magappor SA) y empleando pistola de inseminación. La inducción de la ovulación se realizó con una inyección intramuscular de 20 µg de gonadorelina (Inducel-GnRH, Ovejero) por animal. Las conejas se alimentaron con un pienso comercial (NANTA SL), con un 90,4% de materia seca, 17,2% de proteína bruta, 3905 kcal de energía bruta y 38,6% de fibra. Las 3 primeras semanas tras la inseminación artificial (IA) las hembras recibieron 150 g/día de pienso y tras confirmar la gestación mediante palpación abdominal el día 21 post-IA, se alimentaron *ad libitum*. Tres días antes del parto se adaptó un nido a cada jaula, con viruta como cama. Al parto se contabilizó el número de gazapos vivos y muertos y se pesó a los vivos. Además, en el caso de las conejas híbridas se realizó el ajuste de las camadas, de tal manera que éstas tuvieran entre 8 y 10 gazapos cada una, no siendo necesario este ajuste en las conejas de raza ibicenca. Durante la lactación, se controló la mortalidad y, semanalmente, se calculó el consumo de pienso de la madre y los gazapos, así como el peso de los mismos para el cálculo de la Ganancia Media Diaria (GMD). Además, el día 21 de lactación se pesaron las camadas



después de mamar se estimó la producción de leche mediante la fórmula  $Producción = 0,75 + 1,75 \times \text{peso de la camada a los 21 días}$ , (De Blas *et al.*, 1995). Por último, en la 4ª semana de lactación se pesó a los gazapos de manera individual y se procedió al destete (30 días de vida). La mortalidad en lactación se calculó dividiendo el número de conejos muertos al destete entre el número de ajustados en híbridas o de vivos a parto en ibicencas, multiplicado por 100. Para evitar el efecto camada en los datos productivos de crecimiento en cebo, un total de 40 gazapos de conejas híbridas se distribuyeron al azar en 8 jaulas (5 gazapos de distinta camada/jaula). En el caso de los 37 gazapos ibicencos destetados, se distribuyeron en 6 jaulas de 5 gazapos, una de 4 y otra de 3. Durante este periodo, se realizaron controles semanales de consumo y del peso individual de cada conejo por jaula hasta los 58 días de edad, que es la que debe tener un gazapo cuando llega al peso de sacrificio. Se calculó la GMD y el índice de conversión semanal (IC: kg de pienso consumido/kg de incremento de peso) de cada jaula. La prolificidad (vivos, muertos, totales y destetados), el peso de las camadas, el consumo y la GMD se analizaron a lo largo del experimento con un análisis de varianza de medidas repetidas considerando la raza y el tiempo como efectos principales. La mortalidad y la producción de leche total se analizaron con la raza como efecto principal. Los datos productivos semanales en cebo (peso medio del gazapo, consumo y peso por jaula), la GMD y el IC se analizaron con un análisis de varianza de medidas repetidas con la raza y el tiempo como efectos principales y su interacción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fertilidad obtenida tras la inseminación fue satisfactoria en ambos casos, ya que un 76,8% y un 81,3% de conejas híbridas e ibicencas, respectivamente, quedaron preñadas. Los partos de las conejas híbridas comenzaron antes que en las ibicencas. Esto pudo ser debido al elevado número de nacidos totales que parieron con respecto a las ibicencas, tal y como se muestra en la Tabla 1. Este elevado número de nacidos no afectó a la mortalidad a nacimiento de los gazapos y las dos razas presentaron un número bajo y similar de nacidos muertos. Además, en ambos grupos de conejas se dieron casos de tamaños de camada a nacimiento de 1 solo gazapo, aunque el máximo en las ibicencas fue de 8 y en las híbridas fue de 14.

**Tabla 1. Prolificidad, mortalidad en lactación y producción de leche total de conejas multiparas híbridas e ibicencas.**

| Variables            | Híbridas   | Ibicencas  | p       |
|----------------------|------------|------------|---------|
| Nº partos            | 55         | 13         | -       |
| Nacidos              |            |            |         |
| Totales              | 9,4±0,25   | 3,6±0,56   | <0,0001 |
| Vivos                | 9,0±0,25   | 3,5±0,55   | <0,0001 |
| Muertos              | 0,4±0,07   | 0,2±0,16   | 0,1853  |
| Destetados           | 8,7±0,27   | 3,4±0,55   | <0,0001 |
| Mortalidad* (%)      | 9,4±1,01   | 4,5±3,02   | 0,1324  |
| Producción leche (g) | 8097±171,6 | 3185±383,8 | <0,0001 |

\* Mortalidad durante la lactación. p: significación

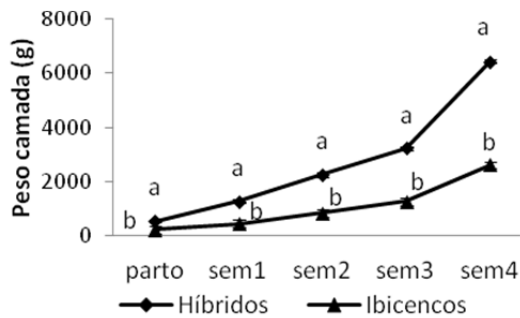
La coneja posee 8-10 glándulas mamarias por lo que con el ajuste de camadas que se realizó al inicio de la lactación en las híbridas, pudimos contrarrestar la mortalidad que se habría producido en ellas, resultando ser estadísticamente similar en las dos razas. La estimación de la producción de leche por el peso de la camada a 21 días en todo el periodo de lactación, fue mayor en las híbridas. Estas hembras proceden de una línea mejorada que está seleccionada genéticamente por velocidad de crecimiento de los gazapos, teniendo una capacidad de ingestión superior. Por esta razón, se pueden explicar las diferencias en los resultados obtenidos de peso de la camada y consumo que se muestran en la Figura 1 y 2, así como de la GMD en la Figura 3. El consumo de pienso las 3 primeras semanas es solamente de la madre, ya que los gazapos empiezan



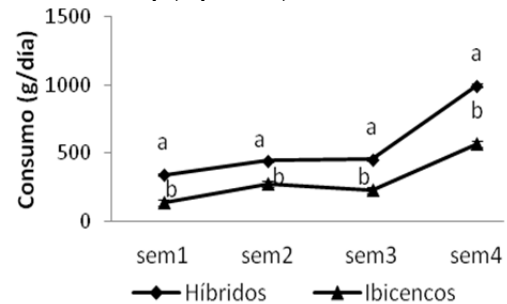


a comer pienso cuando tienen entre 18-20 días de edad y por eso en ambas razas el consumo se dispara en la semana 4. Sin embargo, si analizamos el peso medio de los gazapos a lo largo de la lactación, este parámetro fue similar entre razas e incluso llegó a ser mayor en los ibicencos en el momento del destete (Figura 4).

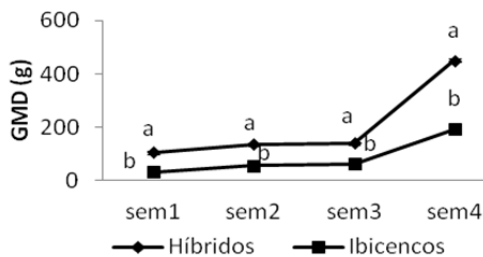
**Figura 1: Peso de la camada en conejos ibicencos e híbridos durante la lactación. (a,b):  $P < 0,05$  entre razas.**



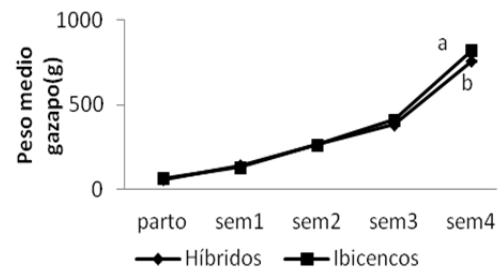
**Figura 2: Consumo de pienso de la madre y los gazapos de conejas ibicencas e híbridas durante la lactación. (a,b):  $P < 0,05$  entre razas.**



**Figura 3: Ganancia media diaria (GMD) de los gazapos de conejas ibicencas e híbridas durante la lactación. (a,b):  $P < 0,05$  entre razas**



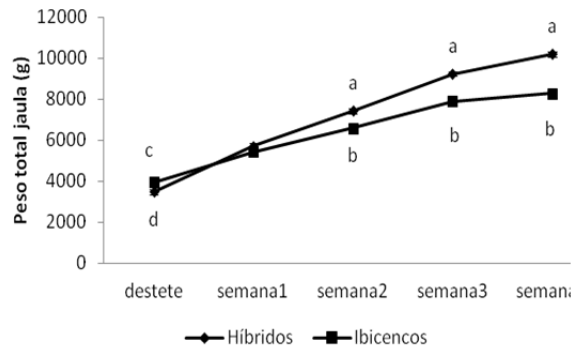
**Figura 4: Peso medio de los gazapos durante la lactación en ambas razas**



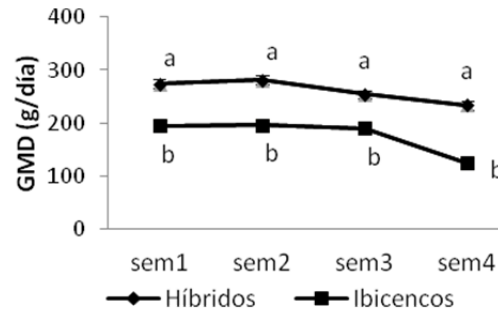
En las Figuras 5, 6, 7 y 8 se muestran los datos recogidos durante la fase de cebo. Al destete, el peso medio de los gazapos ibicencos fue mayor, por tanto, el peso total de la jaula al inicio del cebo fue igualmente más alto. Sin embargo, tras la primera semana sin la madre el peso de los gazapos de ambas razas se equiparó y, a medida que avanzamos en el periodo de cebo, el peso de los híbridos pasó a ser significativamente superior. Los ibicencos tardarían un par de días más en alcanzar el peso de sacrificio de los híbridos. El consumo de pienso es muy similar en ambas razas, salvo en la última semana, en la cual desciende, sobre todo en los ibicencos. La GMD fue superior en los híbridos durante todo el cebo. Respecto al índice de conversión (IC) se puede ver cómo es casi un punto superior en ibicencos, salvo en la última semana que baja dos puntos debido a la caída de consumo que sufren.



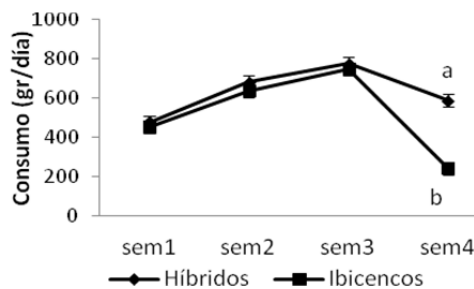
**Figura 5: Peso total de la jaula de conejos ibicencos e híbridos durante el cebo. (a,b): $p<0,001$  y (c,d): $p<0,05$  entre razas.**



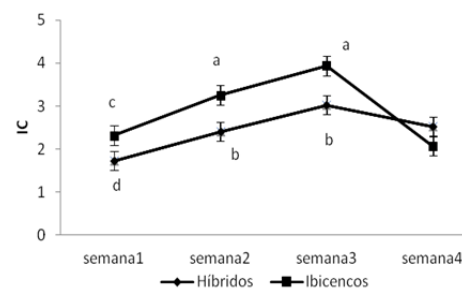
**Figura 7: Ganancia media diaria (GMD) por jaula de conejos ibicencos e híbridos durante el cebo. (a,b): $p<0,001$  entre razas.**



**Figura 6: Consumo de pienso de gazapos ibicencos e híbridos durante el cebo. (a,b): $p<0,001$  entre razas.**



**Figura 8: Índice de conversión (IC) en ibicencos e híbridos durante el cebo. (a,b): $p<0,001$  y (c,d): $p=0,0679$**



## CONCLUSIONES

Como conclusión se puede decir que, observando los datos recogidos en las tablas anteriores, la raza ibicenca es muy poco prolífica comparada con la híbrida. Los gazapos de raza ibicenca nacen con mayor peso pero al poco se igualan pesos y son superados. El consumo de pienso de las madres ibicencas es menor así como la producción de leche. Al destete los gazapos ibicencos entran en el cebo con un peso mayor pero los híbridos tienen mejor ganancia de peso, llegando por tanto al sacrificio con un mayor peso, aunque el consumo de pienso es muy similar. Con esto se puede concluir que la producción de conejos ibicencos supone un coste similar al de la producción de híbridos, pero sus resultados productivos y de crecimiento son peores, siendo dudoso, por tanto, el interés en su producción a escala comercial para venta de carne.

## BIBLIOGRAFÍA

De Blas J.C., Taboada E., Mateos G.G., Nicodemus N. y Méndez J. 1995. Effect of substitution of starch for fiber and fat in isoenergetic diets on nutrient digestibility and reproductive performance of rabbits. *J. Anim. Sci.*, 73, 1131-1137.

Martín de la Rosa, A., Cervantes, I., García-García, R.M., Rebollar, P.G., Arias Álvarez, M., Lorenzo, P.L., Gutiérrez, J.P. Estudio inicial de la estructura genética del conejo ibicenco a partir de información genealógica. *AIDA (2013), XV Jornadas sobre Producción Animal, Tomo II, 514-516.*



## EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE RESIDUOS PROCEDENTES DE LA INDUSTRIA VITIVINÍCOLA EN LA DINÁMICA DEL NITRÓGENO EN DOS TIPOS DE SUELO

Martínez-Caro, Raquel

Tutores: Cartagena Causapé, M<sup>a</sup> Carmen; Requejo Mariscal, María Isabel.

Departamento de QUÍMICA Y ANÁLISIS AGRÍCOLA. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.  
raquel.martinez.caro@alumnos.upm.es

### RESUMEN

En este trabajo se ha realizado un estudio comparativo de la dinámica del nitrógeno mineral en el suelo, después de la aplicación de diferentes residuos de la industria vitivinícola, diferentes en su composición y en el tipo de tratamientos al que han sido sometidos. Se han utilizado dos tipos de suelo de diferentes características y seis tratamientos correspondientes a cinco tipos de residuos y un testigo. El ensayo se ha realizado en cámara de incubación a temperatura controlada, midiendo, a lo largo de 112 días, diferentes parámetros relacionados con la dinámica del nitrógeno en suelo. Por otra parte, se ha llevado a cabo un estudio comparativo de la influencia del método analítico en la determinación de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), mediante el análisis por Inyección de Flujo (Flow Injection Analysis, F.I.A.) y el método del electrodo selectivo. También se ha estudiado la influencia del tipo de extractante (cloruro potásico o agua desionizada) en la concentración de nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) de las muestras de suelo enmendado, utilizando como método analítico el método F.I.A.

**Palabras clave:** Sector vitivinícola, nitrógeno, metodologías

### INTRODUCCIÓN

El sector vitivinícola español tiene gran importancia, tanto por el valor económico que genera, como por la población que ocupa y por el papel que desempeña en la conservación del medio ambiente. Uno de los principales problemas de esta industria son los residuos y subproductos generados en sus procesos de producción, los cuales se caracterizan por bajos niveles de pH, elevada fitotoxicidad y contenido en fenoles antibacterianos que resisten la degradación biológica. Sin embargo, estos materiales poseen elevadas concentraciones de potasio, materia orgánica y niveles significativos de nitrógeno y fósforo, los cuales son elementos importantes en la fertilidad del suelo. Así, estos materiales podrían emplearse en agricultura como fuente de nutrientes y materia orgánica, pero es necesario estudiar los efectos de su aplicación en el suelo antes de su uso. Los objetivos del presente trabajo se basan en el estudio de la dinámica del nitrógeno mineral en el suelo, tras la aplicación de dichos residuos; y en la influencia del método analítico en la determinación de nitratos (FIA y electrodo selectivo) en suelos enmendados y sin enmendar.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha llevado a cabo en dos suelos diferentes, ambos con un pH básico y concentraciones similares de nitrógeno, pero con diferentes texturas. Dichos suelos han sido identificados como *Suelo A* y *Suelo B*, de distinta procedencia. Antes de su caracterización, ambos suelos han sido secados al aire y pasados por un tamiz de 2 mm.



Se han utilizado distintos residuos de la industria vinícola y alcoholera, en fresco o tras haber sido sometidos a un proceso de compostaje. Las características de los residuos y la nomenclatura utilizada se describen a continuación: OD (orujo desalcoholizado),

**Tabla 1. Caracterización de los residuos utilizados en el ensayo de incubación**

|                                       | OD     | OD (Com) | OD+R   | OD+R (Com) | OD+R (Com)v |
|---------------------------------------|--------|----------|--------|------------|-------------|
| Humedad (%)                           | 67,30  | 31,10    | 61,90  | 51,50      | 29,00       |
| pH                                    | 5,40   | 7,90     | 7,20   | 9,50       | 9,20        |
| CE (dS/m)                             | 0,87   | 0,58     | 0,89   | 0,61       | 1,18        |
| % Materia Orgánica                    | 92,60  | 86,20    | 89,80  | 44,10      | 49,50       |
| C org. Oxidable (g/kg)                | 285,80 | 257,10   | 325,50 | 199,50     | 174,00      |
| C org. Soluble (g/kg)                 | 10,77  | 2,72     | 8,98   | 6,30       | 3,89        |
| N Kjeldahl (g/kg)                     | 21,68  | 37,12    | 15,46  | 23,76      | 22,59       |
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (g/kg) | 0,07   | 0,75     | 0,27   | 0,42       | 2,10        |
| N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g/kg) | 1,43   | 1,75     | 0,51   | 1,04       | 1,34        |
| C/N                                   | 14,12  | 7,27     | 21,77  | 8,78       | 8,19        |
| P total (g/kg)                        | 1,05   | 2,86     | 0,71   | 2,81       | 7,61        |
| P inorgánico (g/kg)                   | 0,51   | 2,49     | 0,47   | 2,35       | 7,28        |
| P orgánico (g/kg)                     | 0,53   | 0,42     | 0,24   | 0,46       | 0,33        |
| Ca (g/kg)                             | 0,11   | 0,18     | 0,14   | 1,52       | 0,28        |
| Mg (g/kg)                             | 0,33   | 0,72     | 0,58   | 0,72       | 0,64        |
| K (g/kg)                              | 38,40  | 47,10    | 48,10  | 44,30      | 57,60       |
| Na (g/kg)                             | 12,74  | 17,30    | 9,70   | 8,29       | 13,90       |

OD(Com) (compost obtenido a partir de orujo desalcoholizado), OD+R (mezcla de orujo desalcoholizado y raspón obtenido tras el proceso de despalillado en la elaboración de tintos), OD+R(Com) (compost obtenido a partir de la mezcla de orujo desalcoholizado y raspón) y OD+R(Com)v (compost obtenido a partir de la mezcla de orujo desalcoholizado y raspón pero que lleva almacenado un año en el laboratorio con pérdida de humedad).

En el ensayo experimental, se considera tratamiento cero al

suelo testigo, sin aplicación de residuo. La caracterización de los residuos utilizados en el experimento, se muestra a continuación. Para estudiar el comportamiento de los distintos tipos de residuos en los suelos anteriormente descritos, se llevó a cabo un ensayo de laboratorio a temperatura y humedad controlada. Dicho ensayo comenzó el 17 de enero de 2014 y tuvo una duración de 112 días a una temperatura media de 28 ° C y una humedad correspondiente al 70 % de la capacidad de campo de cada suelo.

En botes de 100 ml de capacidad se introdujeron 100 g de suelo con una dosis de aplicación de residuo correspondiente a 13 T ha<sup>-1</sup> (peso fresco) en campo. Posteriormente se regaron con agua desionizada hasta alcanzar el 70% de su capacidad de campo. A continuación, los botes se cubrieron con “parafilm” para evitar pérdidas por evaporación, abriendo pequeñas perforaciones en el mismo. Para cada suelo y tratamiento se realizó un triplicado por fecha de muestreo, realizando un total de 5 muestreos prolongados en el tiempo (a los 7, 14, 28, 56 y 112 días). Los botes se introdujeron en la cámara de incubación, de donde se fueron extrayendo en sus correspondientes fechas de muestreo. Para mantener la humedad, los botes se regaban semanalmente por diferencia de peso.

La caracterización de los residuos consistió en la determinación de distintos parámetros: humedad, pH, CE, MO, carbono orgánico oxidable, carbono orgánico soluble, nitrógeno Kjeldahl, nitrógeno amoniacal, fósforo total, potasio, calcio y magnesio total. En lo referente a la caracterización de las muestras, los parámetros determinados fueron los siguientes: humedad; carbono orgánico soluble y nitrógeno total soluble, por el método instrumental T.O.C.; amonios, por Análisis en Inyección en Flujo (FIA); y nitratos, por electrodo selectivo y FIA. Una vez obtenidos los datos, se analizaron estadísticamente mediante regresiones lineales y mediante el programa ANOVA y posterior test de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

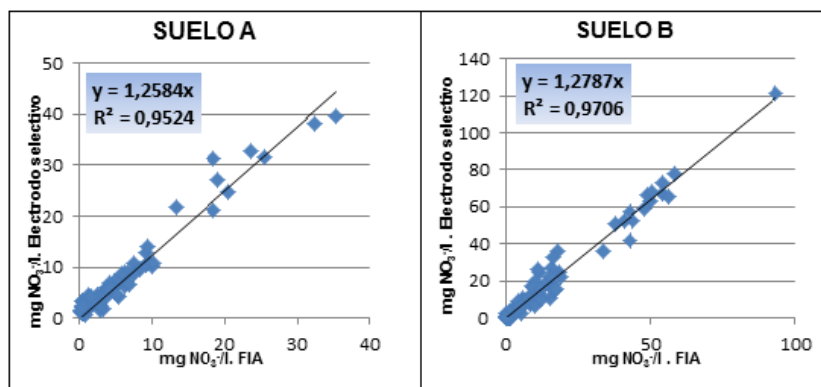
Análisis comparativo de las metodologías utilizadas en la determinación de ión nitrato en los suelos enmendados.

Habitualmente, el método FIA utiliza como extractante KCl, ya que presenta la ventaja de medir simultáneamente la concentración de nitratos y amonio en la misma muestra. Sin embargo, y en base a estudios anteriores realizados por nuestro equipo, en uno de los suelos (suelo A) se identificaron resultados anómalos que hicieron plantearse la posibilidad de la existencia de un problema en el método o en el extractante utilizado.



En lo referente al método analítico, los gráficos (Figura 1) se representan los resultados obtenidos en la concentración de nitratos en la totalidad de las muestras de suelos

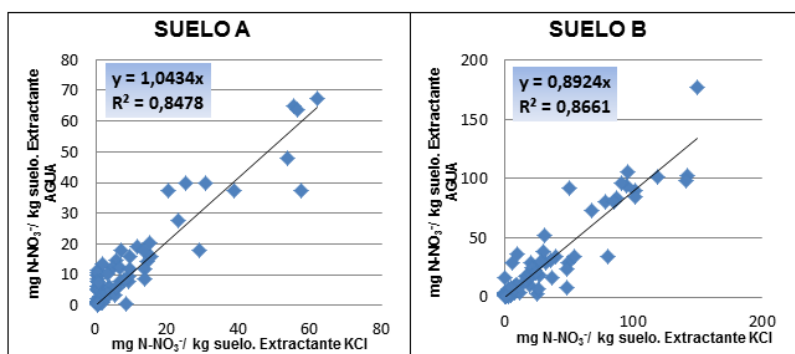
**Figura 1. Comparativa de la concentración de  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) obtenida por los métodos FIA/electrodo selectivo. Extractante: agua.**



del tipo de suelo. Se ha optado por separar ambos suelos, dado que el intervalo de concentraciones encontradas en el suelo A son menores a las del suelo B. Las diferencias entre ambas metodologías radica en la concentración de nitratos en la muestra. Así, en el caso del suelo B, que posee mayores concentraciones, la diferencia entre metodologías es menor.

A la hora de determinar la influencia del tipo de extractante se han representado de forma independiente y para cada tipo de suelo, los resultados de la concentración de nitratos en  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , utilizando como agente extractante agua o KCl (Figura 2). En este caso, se han

**Figura 2. Comparativa de la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) con los extractantes KCL/agua. Método FIA.**



comparado los datos en  $\text{mg}$  de  $\text{N-NO}_3^-$  por  $\text{kg}$  de suelo, dado que partimos de dos extracciones distintas, con diferente peso de suelo. En todos los caso, el método analítico fue FIA. Se puede observar como el tipo de suelo influye en los resultados obtenidos. Así en el suelo A, las

concentraciones obtenidas utilizando como extractante agua son ligeramente superiores a las obtenidas con KCl ( $y = 1,0434x$ ;  $R^2 = 0,8478$ ). Lo contrario ocurre en el suelo B, donde las diferencias entre ambos extractantes son más acusadas ( $y = 0,8924x$ ;  $R^2 = 0,8661$ ). Esto puede deberse, como se ha comentado en el apartado anterior, al intervalo de concentraciones medidos en ambos suelos. El KCl, parece ser más eficaz como extractante a elevadas concentraciones de iones nitrato.

Evolución del nitrógeno mineral en suelos enmendados.

enmendados y no enmendados (180 determinaciones), utilizando distinta metodología analítica: electrodo selectivo y FIA. El extractante común ha sido el agua. Se han representado los dos suelos A y B por separado. Como se puede observar, las lecturas con electrodo selectivo son siempre superiores a las obtenidas por FIA, independientemente

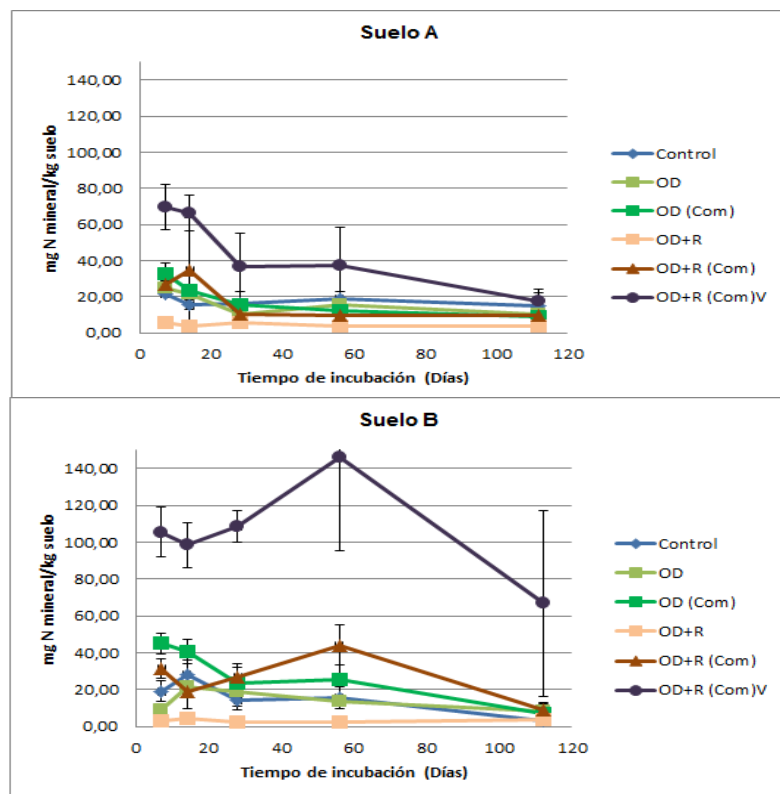
del tipo de suelo. Se ha optado por separar ambos suelos, dado que el intervalo de concentraciones encontradas en el suelo A son menores a las del suelo B. Las diferencias entre ambas metodologías radica en la concentración de nitratos en la muestra. Así, en el caso del suelo B, que posee mayores concentraciones, la diferencia entre metodologías es menor.



En el suelo A (Figura3) y, a excepción del residuo denominado como viejo (OD+R(Com)v), todos los suelos enmendados muestran valores de N mineral ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ) por debajo del testigo, lo que podría deberse a un proceso de inmovilización,

**Figura 3. Evolución de la concentración de N mineral ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) durante el ensayo de incubación.**

residuos de la misma procedencia (Bustamante et al., 2007; Flavel et al., 2005). Este



fenómeno observado también en otros estudios en los que se han utilizado residuos de la misma procedencia (Bustamante et al., 2007; Flavel et al., 2005). Este hecho podría atribuirse a características iniciales del residuo, como la elevada relación C/N (Tabla 1) y el contenido en polifenoles. En el suelo B se observan valores por debajo del testigo en los suelos enmendados con residuos sin compostar. Este hecho puede explicarse por la textura menos arcillosa del suelo, pues la mineralización es mayor en suelos con texturas ligeras (Hernández et al., 2002). Como se observa en la Tabla 1, los residuos no compostados son los que muestran mayor relación C/N. Los valores más elevados de N mineral se dan en el suelo enmendado con OD+R(Com)v (Figura 3), hecho que puede verse

afectado por los elevados valores iniciales de N Kjeldahl y  $\text{N-NO}_3^-$  (Tabla 1) ya que, según Trinsoutrot et al. (2000) la concentración de N del residuo es el factor más influyente en la dinámica del N mineral del suelo. A lo largo del ensayo se observó que la concentración de N mineral en el suelo tendía a mantenerse estable o a disminuir a lo largo del tiempo. Esto pudo deberse la aparición de condiciones de anaerobiosis durante el desarrollo del ensayo que pudieron dar lugar a procesos de desnitrificación.

### CONCLUSIONES

Tras la comparación de las diferentes metodologías, se ha llegado a la conclusión de que tanto el método analítico como el extractante utilizado pueden influir en la determinación de la concentración de nitratos del suelo. La dinámica del nitrógeno de los suelos durante el ensayo de incubación pudo estar influenciada por procesos de desnitrificación e inmovilización.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bustamante, M.A., Pérez-Murcia, M.D., Paredes, C., Moral, R., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., 2007. Bioresource Technology 98, 3269-3277.
- Flavel, T.C., Murphy, D.V., Lalor, B.M., Fillery, I.R.P., 2005. Soil Biol. Biochem. 37, 1397-1400.
- Hernández, T., Moral, R., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., Pérez-Murcia, M.S., García, C., 2002. Bioresour. Technol. 83, 213-219.
- Trinsoutrot, I., Recous, S., Bentz, B., Linères, M., Chèneby, D., Nicolardot, B., 2000. Soil Sci. Soc. Am. J. 64, 918-926.



## ESTUDIO EDAFOLÓGICO DEL PERFIL DE UN SUELO EN EL MONTE DE EL PARDO (MADRID)

Gómez López, Carla; Sevillano Bonilla, Leydi Giovanna

Tutores: Moliner Aramendia, Ana María

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid  
c.gomezl@alumnos.upm.es, lg.sevillano@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Se estudian las características de un perfil de suelo situado en el Monte del Pardo para conocer la relación entre sus propiedades y así determinar el manejo más adecuado y conocer cuáles podrían ser sus posibles usos. Este trabajo consistirá en el análisis de tres muestras de suelo de un perfil localizado en la zona. También se desea relacionar los datos obtenidos en el laboratorio con la información publicada sobre suelos de la región, comparando y contrastando las distintas propiedades del suelo. Esto se llevará a cabo a través de la observación de distintos parámetros (textura, color, contenido de materia orgánica, CC, CRAD, pH, etc.) determinados experimentalmente.

**Palabras clave:** *Bosque, Reserva, conservación*

### INTRODUCCIÓN

El monte de El Pardo, considerado como el bosque mediterráneo más importante de la Comunidad de Madrid, constituye una importante reserva ecológica y biológica como encinar típico mediterráneo, siendo un caso único en Europa de conservación a las puertas de una gran ciudad. Esta zona disfruta del privilegio de ser un espacio protegido (ZEPA), siendo uno de los mejores bosques conservados de Europa. Debido a su actividad antrópica se pueden distinguir dos grandes unidades: una adehesada y otra donde el encinar mantiene una cobertura más densa. Se encuentra situado a lo largo del río Manzanares, a aproximadamente 7 km de la ciudad de Madrid, con una altitud que oscila entre los 598 m y los 822 m sobre el nivel del mar.

Se destaca un relieve ondulado, formado por lomas pequeñas y onduladas que bajan en suave pendiente (pendiente inferior al 20%) (López y García, 2006) al valle del Manzanares, siendo el principal curso de agua, sus aguas van de norte a sur, y termina fluyendo al río Jarama.

Hay gran número de cauces aportando al suelo suficiente humedad para que exista vegetación. También hay fuentes y traídas de agua que drenan la humedad del subsuelo a mucha profundidad. Pozos que extraen el agua de dentro de las arcosas justo por encima de aquellos niveles, que por sus características arcillosas se comportan impidiendo el paso del agua que se infiltra, y es donde se encuentran acuíferos importantes donde se acumula el agua (Génova, 1984).

La mayor parte del monte está localizado sobre arcosas y conglomerados del mioceno, depositados de los relieves de la Sierra de Guadarrama. Las rocas más antiguas encontradas en la zona son neises y granitos.

El suelo está compuesto mayoritariamente por arcosas, es muy frágil a la erosión formándose grandes cárcavas (70% de la superficie erosionada está por debajo de 700 m), (López y García, 2006) y a las modificaciones por compactación (Bienes et al., 2005).

Según la taxonomía de suelos del USDA-NRCS, en las principales cuencas de los ríos madrileños hay una asociación de suelos *Xerorthent* y *Xerofluvent*. Los primeros moderadamente básicos, con contenido medio en materia orgánica, en general profundos de textura franca o arcillosa. Los segundos profundos, también con un contenido medio en materia orgánica, pH ligeramente ácido y textura franco arenosa. Según los mapas de degradación de los suelos de la región de Madrid en la región en la que se localiza El





Pardo, el suelo tiene una textura arenosa, lo que implica una baja capacidad de retención de agua, convirtiéndose el régimen hídrico en un factor limitante para el desarrollo vegetal (López Santallana y García Cobos, 2006), con un contenido en arcilla inferior al 18% y en arena superior al 65%, y un contenido en carbonato cálcico inferior al 5%. El suelo tiende a ser más pobre en partes altas o medias donde hay menos depósitos de materia orgánica (Fernández, 2013).

La precipitación media en la provincia de Madrid es de 576,9 mm, según los datos de 52 estaciones pluviométricas entre los años de 1960-1996 (Fernández, 2011). Al haber dos períodos climáticamente desfavorables para la vegetación, el verano debido a su sequía y el invierno debido a sus heladas, la especie más característica de la región del Pardo y la que mejor se adapta es la encina (*Quercus rotundifolia*), que cubre la mayoría de la superficie, siendo la vegetación originaria de la zona y que constituye un paisaje representativo del centro y oeste de la península Ibérica que se ha perdido en gran parte del territorio (López Santallana y García Cobos, 2006).

Los árboles más característicos de la zona son la encina, el pastizal y el pino piñonero ofreciendo éste último uno de los mejores piños de la especie. Al depositarse sobre el suelo hojas y bellotas, se forma una capa de *humus mull* (Génova, 1994), muy favorable para el crecimiento vegetal, llevando a una gran variedad vegetativa que convive bajo el encinar.

La diversidad faunística es considerable, y muchos animales participan activamente en el ciclo biológico del suelo, hay muchas especies de vertebrados, aves y poblaciones numerosas de jabalí, ciervo y gamo. La zona del Monte del Pardo es una ZEPA (Zona de especial Protección para las Aves), red NATURA 2000, con el número ES0000011 de vital importancia para la protección del águila imperial.

El objetivo principal será averiguar las propiedades del perfil estudiado y así poder determinar cuáles serían las recomendaciones necesarias para mantener el monte en buen estado. Estas propiedades acompañadas de diversos factores indicarán que tipo de vegetación se adaptará mejor, su productividad potencial, fertilidad y mantenimiento faunístico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han tomado tres muestras de aproximadamente un kilogramo cada una, de un perfil realizado en un paseo peatonal y ciclista (lugar exacto de muestreo. 40°31'28.6"N 3°46'53.9"W), en la región de El Pardo para su posterior análisis en laboratorio. En la ficha de campo se describió el perfil.

**Imagen 1: Profundidad del perfil**



**Imagen 2: Vista general del perfil**



**Imagen 3: Localización del perfil**



Inicialmente las muestras se han dejado secar al aire y se han roto los agregados con un rodillo, se han pasado por un tamiz de malla de 2 mm, para así separar la tierra fina de los elementos gruesos y realizar las distintas pruebas en el laboratorio y posteriores análisis y cálculos cuando sean necesarios.

Se han empleado diferentes métodos experimentales para determinar distintos parámetros del suelo y así poder compararlos con los datos encontrados en la bibliografía. Entre ellos se han usado tablas Munsell para determinar el color, el método del densímetro de Bouyoucos para determinar el porcentaje de partículas de arena, limo y arcilla, el método Walkley- Black para determinar el contenido en carbono orgánico y el método aproximado de la probeta para estimar la densidad aparente, la porosidad y la capacidad de campo.





## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el momento del muestreo se ha descrito un perfil con las siguientes características: 46 cm de profundidad, tres horizontes A<sub>1</sub> (0-6 cm), A<sub>2</sub> (7-19 cm) y B<sub>w</sub> (20-46 cm), superficie moderadamente pedregosa y sin afloramientos rocosos, buena estructura formada por agregados granulares bien formados y diferenciados, y por su textura, buen drenaje. La diferencia de altura que hay entre la cota del perfil y la del río más cercano (Manzanares) es de aproximadamente 5 metros.

**Tabla 1. Propiedades físicas de un suelo del monte de El Pardo (Madrid).**

| Horizonte      | Elementos gruesos (%) | Densidad aparente (alterada) | Porosidad (%) | Capacidad de campo (Volumétrica %) | Arcilla (%) | Limo USDA (%) | Arena USDA (%) | Clase Textural USDA |
|----------------|-----------------------|------------------------------|---------------|------------------------------------|-------------|---------------|----------------|---------------------|
| A <sub>1</sub> | 6,98                  | 1,14                         | 56,98         | 10,0                               | 5           | 20            | 75             | Franco arenosa      |
| A <sub>2</sub> | 13,23                 | 1,40                         | 47,17         | 27,7                               | 8           | 12            | 80             | Arena Franca        |
| B <sub>w</sub> | 11,21                 | --                           | --            | --                                 | --          | --            | --             | --                  |

Como se muestra en la tabla 1, en el sistema USDA el horizonte A<sub>1</sub> tiene textura franco-arenosa y el A<sub>2</sub> arena franca. Se ha obtenido una densidad aparente baja en el horizonte superior, probablemente debido al alto contenido en materia orgánica (tabla 3) y una porosidad alta. El segundo horizonte tiene una densidad aparente algo superior. La capacidad de campo en la tabla 1 es la determinada por el método aproximado de la probeta.

**Tabla 2. Propiedades químicas de un suelo del monte de El Pardo (Madrid).**

| Horizonte      | Color en húmedo | Color en seco | pH KCl 1:2,5 | pH agua Extracto 1:2,5 | CE a 25°C (dS/m) Extracto 1:2,5 | Humedad saturación (mL/100 g) |
|----------------|-----------------|---------------|--------------|------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| A <sub>1</sub> | 10 YR 3/2       | 10YR 4/3      | 6,67         | 7,33                   | 0,21                            | 50                            |
| A <sub>2</sub> | 10 YR 3/3       | 10YR 5/4      | 6,33         | 7,22                   | 0,10                            | --                            |
| B <sub>w</sub> | 10 YR 4/4       | 10 YR 6/4     | --           | --                     | --                              | --                            |

La tabla 2 nos indica que se trata de un suelo con pH en agua cerca de la neutralidad. Desciende ligeramente al medirlo en KCl debido a la presencia de una baja acidez de cambio. La conductividad eléctrica es baja, lo que nos indica escasa presencia de sales solubles. La humedad de saturación se alcanza cuando todos los poros están llenos de agua por lo que de este valor podemos estimar la porosidad total. Es un valor adecuado que corresponde a un suelo de textura equilibrada.

**Tabla 3: Propiedades biológicas de un suelo del monte de El Pardo (Madrid).**

| Horizonte      | Carbonatos Totales (%) | Materia Orgánica (%) |
|----------------|------------------------|----------------------|
| A <sub>1</sub> | ip*                    | 3,0                  |
| A <sub>2</sub> | ip                     | --                   |
| B <sub>w</sub> | ip                     | --                   |

\*ip-inapreciable

## CONCLUSIONES



Los datos obtenidos en el laboratorio han ayudado a conocer algunos procesos de formación del suelo y su posterior clasificación, así como su fertilidad y productividad potencial. En general los suelos del Monte de El Pardo (Madrid), son suelos muy jóvenes, sin apenas transformación, se encuentran muy próximos a la roca madre. Al no recibir abundantes precipitaciones son suelos poco lavados. Pero, son suelos vulnerables a la erosión.

Se observa que el árbol más característico del Monte del Pardo es la encina, esto se explica porque resiste muy bien a la sequía y a las variaciones de temperatura debidas a la continentalidad de la región madrileña. Su productividad potencial se puede analizar en las bellotas y hojas que caen al suelo favoreciendo al crecimiento de la vegetación, en el alto porcentaje de materia orgánica y en un pH neutro. La fertilidad, depende de diversos factores y a pesar del buen contenido en materia orgánica, la textura hace que sean suelos que se drenan muy bien, esto sumado a la falta de precipitaciones es desfavorable para la retención de agua. A pesar de contar con un elevado espacio poroso, debido al tamaño predominante de partículas, éste estará probablemente formado en mayor parte por macroporos, que al llenarse de agua tenderán a drenarse, dejando poca agua disponible para la vegetación que además a su paso arrastra nutrientes de la solución del suelo.

En contraste, el bajo contenido en sales, el pH neutro y la ausencia de carbonatos se suman a la materia orgánica haciendo que especies adaptadas a las condiciones ambientales, como en este caso la encina, se vean favorecidas y puedan desarrollarse fácilmente.

El Pardo debido a su alta diversidad faunística que participa del ciclo biológico y a su interés como zona de protección de aves, requiere un cuidado especial para evitar su degradación. Al ser suelos fácilmente erosionables, interesa que siempre haya una cubierta vegetal para evitar su erosión, también que se preserve el encinar pues es de vital importancia para los aportes de materia orgánica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Almorox Alonso, J., De Antonio García, R., y Hontoria Fernández, C. (2004). Guía de Campo para la Descripción de Perfiles. Servicio de Publicaciones de la ETSI Agrónomos (UPM).
- Bienes Allas, R., Domínguez Barroso, M<sup>a</sup>. A. y Pérez Rodríguez, R. (2005). Mapa de degradación de los suelos de la Comunidad de Madrid, Volumen 4: Colección de Investigación. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio (IMIDRA).
- Fernández, J. (2011). Caracterización de las comarcas agrarias de España. Tomo 1: Comunidades Autónomas (sinopsis).9:190-203.
- Genova, M.M. (1984). Guía de los Montes de El Pardo y Viñuelas Vol. 5. Consejería de Agricultura y Ganadería.
- López Santalla, A. y García Cobos, J. (2006) La ingeniería para la protección de la diversidad: Lucha contra la erosión en el Monte de El Pardo, III Congreso de Ingeniería Civil, Territorio y Medio Ambiente, (Zaragoza)
- Panadero Moya, M. Y Valenzuela Rubio, M., (1994). Geografía de España, Volumen 10: Castilla-La Mancha, Madrid.
- Pérez Arias, J. (1992). Estudio de la estabilidad estructural del suelo en relación con el complejo de cambio. Tesis Doctoral (UPM)



## PROGRAMACIÓN DEL RIEGO Y LA FERTILIZACIÓN DE LA PATATA EN LA RIOJA CON AQUACROP Y DSSAT.

González del Valle, Lucía.

Tutor: Lizaso, Jon I.

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.*

*lucia.gonzalezdelvalle.garcia@alumnos.upm.es*

### RESUMEN

La patata es un cultivo exigente en nitrógeno y sensible a la falta de agua. La legislación de Zonas Vulnerables a la contaminación por nitratos regula las dosis máximas de fertilizante a aplicar. En una Zona Vulnerable de La Rioja y mediante la simulación con los modelos AquaCrop y DSSAT de tres variedades cultivadas en la región se han obtenido nuevas estrategias de fertilización y riego, llegando a alcanzar incluso mejores rendimientos que los obtenidos por el agricultor y reduciendo el uso de agua y fertilizante nitrogenado.

**Palabras clave:** Zona vulnerable, SUBTOR-Potato, optimización.

### INTRODUCCIÓN

La patata es uno de los cultivos más importantes de La Rioja, destacando que es la comunidad autónoma donde se obtiene los mayores rendimientos, alcanzándose hasta 49,7 t/ha (MAGRAMA, 2012).

Debido a la agricultura intensiva y a la aplicación inadecuada de fertilizantes nitrogenados, la zona aluvial del río Oja, donde se localiza el estudio, fue declarada en 2006 Zona Vulnerable a la Contaminación por Nitratos de origen agrario (BOR 2006). Por este motivo y porque el aporte de agua y nitrógeno son factores determinantes del rendimiento de este cultivo, se ha decidido realizar este estudio. El objetivo es evaluar y optimizar el manejo del riego y la fertilización nitrogenada utilizando los modelos AquaCrop y SUBSTOR-Potato.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó a partir de los datos de la Tesis Doctoral “Ajuste, validación del modelo EU-Rotate\_N en una zona vulnerable a la contaminación por nitratos. Optimización de la fertilización nitrogenada” de Leticia Olasolo (2013).

AquaCrop (Steduto et al., 2008) es un modelo de simulación de la productividad de los cultivos en función del uso del agua que ha sido desarrollado por la División de tierras y Aguas de la FAO. En este trabajo se utilizó la versión 4.0. El programa se caracteriza por utilizar un número relativamente pequeño de parámetros explícitos, y en su mayoría intuitivos, y de inputs que requieren métodos sencillos para su determinación.

La calibración del modelo se llevó a cabo, teniendo en cuenta que los datos de referencia son el rendimiento y la biomasa, fijando dos parámetros que permiten ajustarlos. Primero se realizó el ajuste de la biomasa, variando el parámetro de máximo desarrollo de la cubierta (*maximun canopy development*). A continuación, se procedió del mismo modo para realizar el ajuste de rendimiento utilizando el índice de cosecha (*harvest index*, HI).

El otro modelo utilizado fue SUBSTOR-Potato (Griffin et al., 1993), el cual forma parte del software de simulación DSSAT (Decision Support System for Agrotechnology Transfer; Hoogenboom et al., 2010) desarrollado por IBSNAT. En este trabajo se utilizó la versión 4.5.

Este modelo utiliza datos de clima, suelo, cultivo y manejo para llevar a cabo los cálculos. Partiendo de esta información simula el desarrollo del cultivo, el crecimiento y la producción de tubérculos. Para realizar la simulación fue necesario calibrar el modelo puesto que las variedades estudiadas no se encontraban dentro de la base de datos que



ofrece DSSAT. SUBSTOR-Potato permite modificar cuatro coeficientes de cultivo para realizar la calibración: TC, P2, G2 y G3.. Los dos primeros coeficientes se utilizaron para calcular el inicio de la tuberización y los dos últimos para ajustar los datos del peso fresco del tubérculo y el peso total de la planta en cosecha. También sirven para regular el índice de área foliar máximo de la planta.

Una vez calibrado, el modelo SUBSTOR-Potato se utilizó para diseñar las dosis de fertilizante óptimas y a su vez para verificar los resultados de riego obtenidos mediante AquaCrop. El diseño de los tratamientos de fertilización se hizo cuidando de no exceder las dosis máximas permitidas según la legislación de Zonas Vulnerables del gobierno de La Rioja (Tabla 1) y manteniendo el modo de aplicación de los fertilizantes llevado a cabo por los agricultores.

El agricultor fracciona la fertilización de nitrógeno en dos aplicaciones. La primera de ellas, con menor contenido de nitrógeno, la realiza antes del cultivo y el resto una vez que ha comenzado a desarrollarse.

Las fertilizaciones estudiadas con el modelo se han dividido en tres aplicaciones, la primera se realiza siempre en presembrado y el resto de aportes a lo largo del ciclo de cultivo (Tabla 1). Hay que tener en cuenta que las fechas de aplicación son iguales en todos los tipos de fertilización diseñados, para una misma variedad, lo único que cambia es el aporte de nitrógeno, que es siempre el máximo permitido por la legislación.

**Tabla 1. Cantidad máxima de N permitida según la legislación (BOR, 2009) y porcentaje de fertilizante aplicado en las fertilizaciones diseñadas y en la aplicación del agricultor.**

| Dosis máxima de nitrógeno (kg/ha) | Agria          | Red Pontiac      | Monalisa         |
|-----------------------------------|----------------|------------------|------------------|
|                                   | 190            | 190              | 170              |
| Tratamiento simulado              | Presiembra (%) | 1ª Cobertura (%) | 2ª Cobertura (%) |
| Agricultor                        | 40             | 60               | -                |
| 1                                 | 40             | 30               | 30               |
| 2                                 | 40             | 40               | 20               |
| 3                                 | 40             | 20               | 40               |
| 4                                 | 25             | 25               | 50               |
| 5                                 | 10             | 45               | 45               |
| 6                                 | 10             | 60               | 30               |
| 7                                 | 15             | 65               | 20               |

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los riegos calculados por el programa AquaCrop tienen en cuenta el ciclo de cultivo y el déficit de agua que puede existir durante el desarrollo de la planta. Una vez obtenidos los datos podemos ver que la dosis total calculada con AquaCrop es menor que la del agricultor en todos los casos menos para la variedad Monalisa (Tabla 2). Y el número de riegos es mayor, excepto en el caso de Red Pontiac que son menores.

Al comparar los resultados obtenidos con ambos modelos se puede ver que en general, SUBSTOR-Potato simula requerimientos menores de riego, porque la aplicación de agua se inicia cuando el cultivo está más desarrollado.

**Tabla 2. Resumen de los datos de riego obtenidos.**

| Cultivo     | Agricultor   |            | AquaCrop     |            | SUBSTOR-Potato |            |
|-------------|--------------|------------|--------------|------------|----------------|------------|
|             | Nº de riegos | Dosis (mm) | Nº de riegos | Dosis (mm) | Nº de riegos   | Dosis (mm) |
| Agria       | 17           | 554        | 22           | 456,4      | 16             | 431        |
| Red Pontiac | 16           | 444        | 15           | 340,3      | 15             | 383        |
| Monalisa    | 13           | 456        | 23           | 476        | 19             | 400        |



La dosis de fertilizante se calculó teniendo en cuenta el ciclo de cultivo de cada una de las variedades, con el fin de aportar los requerimientos de nitrógeno demandados a lo largo de su desarrollo.

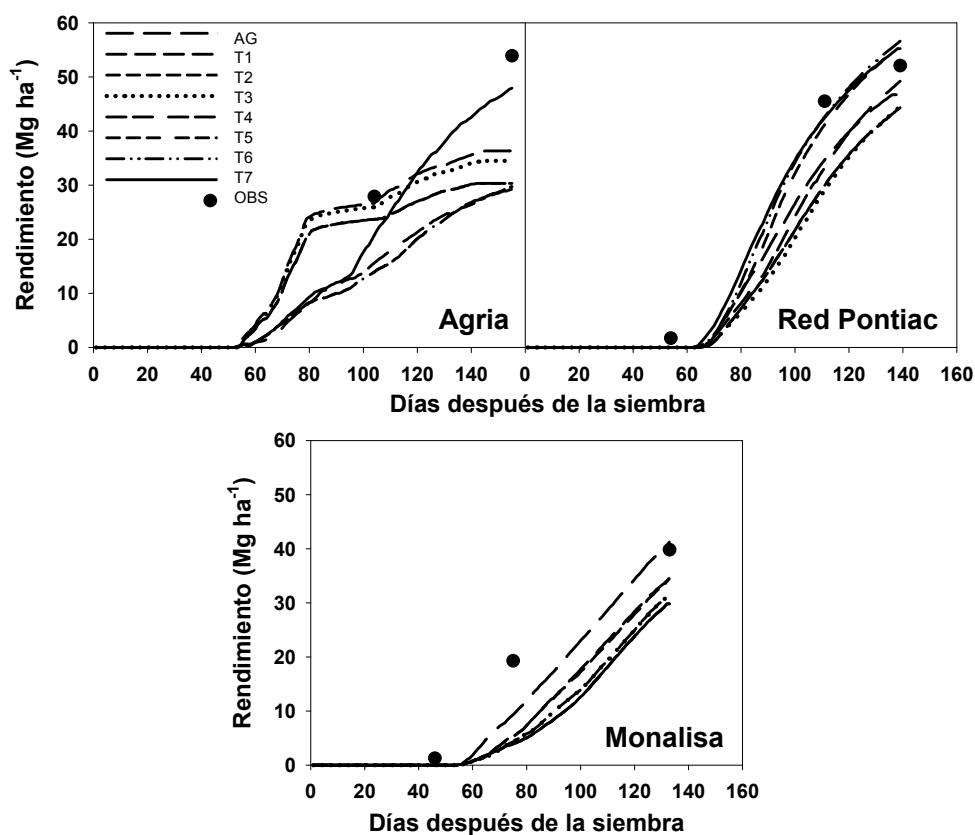
A cada una de las variedades le conviene un tipo distinto de aporte de nitrógeno (Figura 1; Tabla 3). Para la variedad Agria los mejores resultados se han obtenido con la fertilización 7. Mientras que para Red Pontiac la fertilización más adecuada es la 6 con la cual se llega a superar el rendimiento obtenido por el agricultor. Y en cambio la variedad Monalisa alcanza un mayor rendimiento con las fertilizaciones 1 ó 2. Hay que tener en cuenta que la dosis aplicada en estas fertilizaciones es siempre menor que la utilizada por el agricultor.

**Tabla 3. Rendimientos (Mg/ha) observados y simulados con SUBSTOR-Potato.**

|                              | <b>Agria</b> | <b>Red Pontiac</b> | <b>Monalisa</b> |
|------------------------------|--------------|--------------------|-----------------|
| <b>Observado<sup>1</sup></b> | 53,9         | 52,1               | 39,8            |
| <b>Agricultor</b>            | 36,3         | 46,7               | 41,2            |
| <b>Fertilización 1</b>       | 30,3         | 44,3               | <b>34,6</b>     |
| <b>Fertilización 2</b>       | 30,3         | 44,3               | <b>34,6</b>     |
| <b>Fertilización 3</b>       | 34,5         | 44,5               | 34,4            |
| <b>Fertilización 4</b>       | 31,8         | 49,2               | 31,7            |
| <b>Fertilización 5</b>       | 29,7         | 55,7               | 29,8            |
| <b>Fertilización 6</b>       | 29,7         | <b>56,6</b>        | 29,8            |
| <b>Fertilización 7</b>       | <b>47,9</b>  | 55,2               | 33,1            |

<sup>1</sup>: Olasolo, 2013

**Figura 1: Formación del rendimiento observado y simulado para tres variedades de patata y ocho tratamientos de fraccionamiento del fertilizante<sup>1</sup>.**



<sup>1</sup>: Porcentaje del N total aplicado en 3 dosis. OBS: valores observados; Ag: 40-60; F1: 40-30-30; F2: 40-40-20; F3: 40-20-40; F4: 25-25-50; F5: 10-45-45; F6: 10-60-30; F7: 15-65-20.



## CONCLUSIONES

El manejo más adecuado del riego se realiza con el programa AquaCrop puesto que es un modelo diseñado específicamente para llevar a cabo el manejo del agua en los distintos tipos de cultivo. Además permite modificar parámetros como el inicio del periodo de riego, la frecuencia de los riegos y con ellos también la cantidad de agua que hay que aplicar en cada momento.

Con el uso del modelo SUBSTOR- Potato se ha visto que, al fraccionar correctamente el nitrógeno, se aprovecha de manera más eficiente y no se requieren dosis tan elevadas. Los rendimientos obtenidos mediante la simulación de estas aplicaciones no fueron muy diferentes a los del agricultor y en ocasiones resultaron mejores.

También debemos considerar que en el manejo de estas zonas vulnerables debe prevalecer una mayor eficiencia en el uso de los recursos agua y nitrógeno, por lo que debe abordarse desde una perspectiva integrada. Cada uno de estos recursos es importante de manera individual, pero también pueden establecerse relaciones sinérgicas entre ambos.

El uso conjunto de los modelos utilizados sugiere la posibilidad de mejorar la eficiencia de uso de estos recursos en el cultivo de la patata, en estas zonas vulnerables de La Rioja. El análisis indica además que el aumento de la eficiencia se consigue sin sacrificar la productividad del cultivo y con ella la rentabilidad del agricultor. Además, el manejo correcto de la fertilización y el riego favorece la conservación del suelo, recurso que hay que mantener, puesto que es el sustento de las posteriores cosechas y el medio principal a través del cual el agricultor ejerce su actividad.

## AGRADECIMIENTOS

Se reconoce el apoyo recibido por la Comunidad de Madrid a través del Proyecto AGRISOST P2013/ABI2717.

## BIBLIOGRAFÍA

- Montoya, F.; - Domínguez, A.; - Ortega, J.F.; - Córcoles, J.I.; - Camargo D. 2013. Artículo: Calibración del modelo AquaCrop con un cultivo de patata (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones semiáridas. Centro Regional de Estudios del Agua (CREA), Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM), Albacete.
- Goffart, J.P., Olivier, M., Frankinet, M. 2008. Potato Crop Nitrogen Status Assessment to improve N fertilization management and efficiency: past-present-future. EAPR.
- Griffin, T.S., Johnson, B.S., Ritchie, J.T. 1993. A simulation model for potato growth and development: SUBSTOR-POTATO Version 2.0. IBSNAT.
- Heidmanna, T., Toftengb, C., Abrahamsenb, P., Plauborg F., Hansenb, S., Battilani A., Coutinho J., Dolezal F., Mazurczyk W., Ruiz J.D.R, Taka J., Vacek J. 2007. Calibration procedure for a potato crop growth model using information from across Europe. [www.elsevier.com/locate/ecolmodel](http://www.elsevier.com/locate/ecolmodel) (10/14)
- Hoogenboom, G., J.W. Jones, P.W. Wilkens, C.H. Porter, K.J. Boote, L.A. Hunt, U. Singh, J.I. Lizaso, J.W. White, O. Uryasev, F.S. Royce, R. Ogoshi, A.J. Gijsman, and G.Y. Tsuji. 2010. Decision Support System for Agrotechnology Transfer (DSSAT) Version 4.5 [CD - ROM]. University of Hawaii, Honolulu, Hawaii.
- Olasolo, L. 2013. Tesis: Ajuste, validación y aplicación del modelo EU-Rotate\_N en una zona vulnerable a la contaminación por nitratos. Optimización de la fertilización nitrogenada. Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática. Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones.
- Palacios Calleja, M. 2010. Proyecto Fin de Carrera Evaluación de las prácticas convencionales de fertilización y riego en patata y zanahoria en Rodezno (La Rioja). Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, UPN.
- Steduto, P., Raes D., Hsiao T.C., Fereres E., Heng, L., Izzi, G., Hoogeveen J.. 2008. AquaCrop: a new model for crop prediction under water deficit conditions. Land and Water Division, FAO, United Nation, Italy.



## INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO DEL INÓCULO RUMINAL EN LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE TRES FORRAJES DE DIFERENTE CALIDAD NUTRITIVA

Ramos Báez, Mireia

Tutor: Carro Travieso, María Dolores

Departamento de Producción Animal. E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Madrid

mireia.ramos.baez@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Son varios los factores que pueden influir en los resultados de las fermentaciones *in vitro* con cultivos de microorganismos ruminales que se utilizan en la valoración nutritiva de alimentos. El tratamiento del contenido ruminal para obtener el inóculo es uno de los más importantes, ya que pueden existir diferencias en los microorganismos que se encuentran en el líquido obtenido. Para analizar la influencia de este factor se extrajo contenido ruminal de cuatro ovejas fistuladas y se aplicaron tres métodos de procesado diferentes: filtrado a través de 4 capas de gasa (GAS), filtrado a través de 4 capas de gasa y posterior filtración a través de una tela de nailon de 100 micras (NAIL) y tratado con un homogeneizador Stomacher® (3 minutos, 230 rpm) y posterior filtrado por 4 capas de gasa (STO). Como sustratos se utilizaron heno de alfalfa, heno de gramíneas y paja de cebada. El tratamiento no afectó ( $P>0,05$ ) a la producción de metano y ácidos grasos volátiles (AGV) ni a la proporción molar de acético a las 8 y 24 horas de incubación. A las 8 h de incubación se observó que el inóculo del tratamiento STO produjo mayor ( $P<0,05$ ) proporción de propiónico y menor ( $P<0,05$ ) proporción de butírico y otros AGV que el tratamiento GAS. Sin embargo, estas diferencias desaparecieron a las 24 horas de incubación. Los resultados indican que el tratamiento del contenido ruminal puede tener influencia en los resultados de incubaciones de corta duración.

**Palabras clave:** fermentación ruminal, *in vitro*, forrajes

### INTRODUCCION

La utilización de animales para experimentación animal está regulada por Leyes que indican la necesidad de reducir el número de animales utilizados (Directiva 2010/63/UE). Por ello, es necesaria la implantación de técnicas alternativas, lo que puede contribuir también a reducir los costes de la experimentación y aumentar su facilidad. En el campo de la nutrición de los animales rumiantes el estudio de los procesos digestivos que se producen en el rumen tiene una gran importancia. En este ecosistema se produce una simbiosis entre el animal hospedador y una serie de microorganismos que lo habitan y que participan de forma muy importante en la digestión de los alimentos.

Los cultivos de microorganismos ruminales (CMR) son unos de los sistemas *in vitro* más utilizados para el estudio de la fermentación ruminal (Getachew et al., 2005). Existen numerosos factores que pueden afectar a los resultados obtenidos con esta técnica pero las características del inóculo ruminal utilizado es uno de los principales (Mould et al., 2005). Un aspecto muy importante es que los microorganismos que se encuentran en el inóculo sean representativos de todos los que existen en el rumen. Sin embargo, en la mayoría de los casos se suele utilizar como inóculo el líquido obtenido tras filtrar el contenido ruminal por cuatro capas de gasa, a pesar de que no incluye los microorganismos asociados a la fase sólida del rumen. Estos microorganismos contribuyen en gran medida a la digestión de los alimentos, sobre todo de los alimentos fibrosos como los forrajes. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dos tipos de filtrado y el tratamiento con Stomacher® del contenido ruminal sobre los parámetros fermentativos de tres forrajes cuando se incubaron *in vitro* con el fluido obtenido con estos tres tratamientos. El tratamiento con Stomacher® se seleccionó



porque se ha demostrado su eficacia para desligar los microorganismos asociados a la fase sólida del rumen (Ramos et al., 2009).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales donantes de líquido ruminal fueron cuatro ovejas adultas cruzadas (Merina x Talaverana) provistas de una cánula ruminal permanente y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado (2:1) durante la duración de las pruebas experimentales. Como sustratos utilizaron tres forrajes de diferente composición química: heno de alfalfa (177 g de proteína bruta (PB) y 455 g fibra neutro detergente (FND) por kg de materia seca (MS)), heno de gramíneas (94 g de PB y 616 g de FND por kg de MS) y paja de cebada (52 g de PB y 754 g de FND por kg de MS).

Las incubaciones *in vitro* se realizaron utilizando un sistema de CMR en viales de vidrio de 120 ml. En cada vial se pesaron 300 mg de MS del forraje correspondiente molido a 1 mm. A primera hora de la mañana se obtuvo contenido ruminal de una oveja y se sometió a tres tratamientos: filtrado por cuatro capas de gasa (GAS), filtrado por cuatro capas de gasa y un segundo filtrado por una bolsa de nailon de 100 micras (NAIL), y tratamiento con Stomacher® a 230 rpm durante tres minutos y un filtrado posterior por cuatro capas de gasa (STO). Cada uno de los fluidos ruminales obtenidos se mezcló con el medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970) en proporción 1:4 y se dosificaron 30 ml de la mezcla dentro de cada vial en condiciones de anaerobiosis (gaseado continuo con CO<sub>2</sub>) y a 39°C. Los viales (dos por cada forraje y tratamiento) se cerraron herméticamente con un tapón de caucho y se colocaron en un incubador a 39°C. Tras 8 h de incubación se midió la producción de gas en uno de los viales usando un medidor de presión y una jeringa calibrada (ver figura 1) y se tomó una muestra de 15 ml en un tubo con vacío para analizar su concentración en metano. Posteriormente, se abrieron los viales y se tomaron muestras para analizar su concentración en AGV. A las 24 h de incubación se procedió de forma similar en el otro vial. Las incubaciones se repitieron durante cuatro días diferentes, cada día con el contenido ruminal de una oveja diferente. Las muestras para analizar su concentración en ácidos grasos volátiles se descongelaron a 4°C, se centrifugaron (1300 rpm, 15 minutos) y se procesó el sobrenadante siguiendo el procedimiento descrito por Martínez et al. (2010). Los análisis de metano y AGV se llevaron a cabo por cromatografía de gases según los métodos descritos por Martínez et al. (2010). Los resultados se sometieron a un análisis de varianza utilizando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) y un diseño jerarquizado en el que el tipo de forraje fue el factor principal y el tratamiento del inóculo el factor anidado. El tipo de forraje y el tratamiento del inóculo se consideraron efectos fijos y la oveja donante se consideró un efecto aleatorio. La significación estadística se estableció en  $P < 0.05$ .

**Figura 1. Medida de la producción gas en los viales.**



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN





Como se puede apreciar en la tabla 1, no se observaron interacciones tratamiento x forraje ( $P>0,05$ ) en ninguno de los casos. En las incubaciones de 8 horas de duración el tratamiento del contenido ruminal no afectó ( $P>0,05$ ) a la producción de metano y AGV totales ni a la proporción molar de acético. En cambio, las proporciones molares de propiónico, butírico y otros AGV (suma de isobutírico, isovalérico, valérico y caproico) variaron ( $P<0,05$ ) con los tratamientos. El tratamiento STO aumentó ( $P<0,05$ ) la proporción de propiónico y redujo ( $P<0,05$ ) la proporción de butírico y otros AGV en comparación con el tratamiento GAS. Estos resultados podrían deberse al desligamiento de bacterias que se encuentran adheridas a la fase sólida, tal y como han señalado otros autores (Bueno, 2005; Ramos et al., 2009), y a la lisis de los protozoos provocada por el tratamiento STO (Sylvester et al., 2005), ya que los protozoos contribuyen en gran medida a la producción de butírico.

El tipo de forraje influyó ( $P<0,05$ ) en todos los parámetros determinados, a excepción de la proporción molar de otros AGV en la que no hubo diferencias significativas ( $P=0,109$ ). Con los tres tratamientos, la paja de cebada fue el forraje que produjo menor ( $P<0,05$ ) cantidad de metano y de AGV y el heno de alfalfa fue el que mostró los mayores valores para esos dos parámetros ( $P<0,05$ ).

**Tabla 1. Efecto del tratamiento del contenido ruminal (TR) y el tipo de forraje sobre la producción de metano ( $\mu\text{mol}$ ) y ácidos grasos volátiles (AGV;  $\mu\text{mol}$ ) y las proporciones molares ( $\text{mol}/100 \text{ mol}$ ) de AGV en incubaciones *in vitro* de 8 horas.**

|                      |                 | Forraje <sup>1</sup> |      |      | eem <sup>2</sup> | Valor de P |         |              |
|----------------------|-----------------|----------------------|------|------|------------------|------------|---------|--------------|
|                      | TR <sup>3</sup> | HA                   | HG   | PC   |                  | TR         | Forraje | TR x Forraje |
| Metano               | GAS             | 173                  | 139  | 84,0 | 9,60             | 0,497      | <0,001  | 0,193        |
|                      | NAIL            | 180                  | 120  | 74,7 |                  |            |         |              |
|                      | STO             | 201                  | 133  | 67,2 |                  |            |         |              |
| Total AGV            | GAS             | 752                  | 473  | 246  | 23,8             | 0,469      | <0,001  | 0,447        |
|                      | NAIL            | 812                  | 462  | 233  |                  |            |         |              |
|                      | STO             | 782                  | 429  | 223  |                  |            |         |              |
| Proporciones molares |                 |                      |      |      |                  |            |         |              |
| Acético              | GAS             | 68,4                 | 66,1 | 64,2 | 1,17             | 0,586      | 0,025   | 0,923        |
|                      | NAIL            | 67,3                 | 65,5 | 63,9 |                  |            |         |              |
|                      | STO             | 67,7                 | 66,4 | 64,5 |                  |            |         |              |
| Propiónico           | GAS             | 22,6                 | 21,1 | 18,9 | 1,16             | 0,023      | 0,022   | 0,923        |
|                      | NAIL            | 24,1                 | 23,3 | 20,2 |                  |            |         |              |
|                      | STO             | 24,4                 | 23,5 | 21,2 |                  |            |         |              |
| Butírico             | GAS             | 6,18                 | 10,0 | 13,4 | 0,41             | <0,001     | <0,001  | 0,622        |
|                      | NAIL            | 6,05                 | 9,02 | 12,7 |                  |            |         |              |
|                      | STO             | 5,41                 | 8,15 | 11,2 |                  |            |         |              |
| Otros <sup>4</sup>   | GAS             | 2,73                 | 2,36 | 3,27 | 0,28             | 0,016      | 0,109   | 0,981        |
|                      | NAIL            | 2,41                 | 2,01 | 2,94 |                  |            |         |              |
|                      | STO             | 2,33                 | 1,71 | 2,72 |                  |            |         |              |

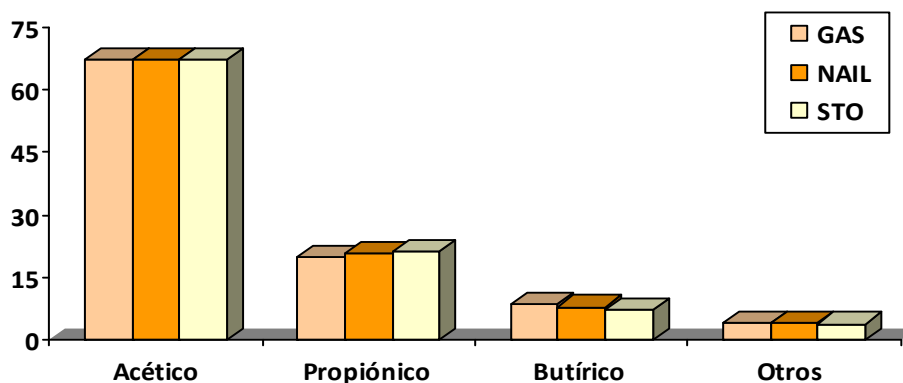
<sup>1</sup> HA: heno de alfalfa; HG: heno de gramíneas; PC: paja de cebada. <sup>2</sup> error estándar de la media.

<sup>3</sup> GAS: filtrado a través de 4 capas de gasa; NAIL: filtrado a través de 4 capas de gasa y de una capa de nailon (100  $\mu\text{m}$  de poro); STO: tratamiento con un homogeneizador Stomacher® (3 min, 230 rpm) previo al filtrado a través de 4 capas de gasa. <sup>4</sup> Suma de isobutírico, isovalérico, valérico y caproico.



A las 24 h de incubación no se detectaron interacciones tratamiento x forraje ( $P>0,05$ ) ni tampoco diferencias ( $P>0,05$ ) entre tratamientos en la producción de metano y AGV totales y en las proporciones molares de AGV (ver figura 2).

**Figura 2. Efecto del tratamiento del contenido ruminal de ovejas (GAS, NAIL y STO) sobre la proporción molar (mol/100 mol) de ácidos grasos volátiles en incubaciones in vitro de 24 horas (valores medios para los 3 forrajes incubados)<sup>1</sup>.**



<sup>1</sup>Ver texto para descripción de los tratamientos. Otros: isobutírico, isovalérico, valérico y caproico.

## CONCLUSIONES

Los resultados indican que el tratamiento del contenido ruminal con un Stomacher® para obtener inóculo para incubaciones in vitro puede afectar a los parámetros fermentativos en incubaciones de corta duración (8 horas), pero a las 24 h de incubación no hubo diferencias entre tratamientos en ninguno de los parámetros analizados para estos alimentos. Por ello, se considera que la utilización de un Stomacher® para tratar el contenido ruminal no aporta ninguna ventaja frente al método de filtrado por cuatro capas de gasa que se utiliza habitualmente.

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutora María Dolores Carro. Este trabajo ha sido financiado por los Proyectos AGL2011-22628 (MICINN) y MEDGAN ABI-2913 (Comunidad de Madrid y Fondos Estructurales de la UE).

## BIBLIOGRAFÍA

- Bueno I.C.S., Carbal Filho S.L.S., Gobbo S.P., Louvandini H., Vitti D.M.S.S., Abdalla A.L. 2005. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 95-105.
- Directiva 2012/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos.
- Getachew G., DePeters E.J., Robinson P.H., Fadel J.G. 2005. *Animal Feed Science and Technology*. N°123-124: 557-562.
- Goering H. K., Van Soest P. J. 1970. In: *Agriculture Handbook* No. 379. Agriculture Research Service, United States Department of Agriculture. Washington, DC, USA.
- Martínez M.E., Ranilla M.J., Tejido M.L. Ramos S., Carro M.D. 2010. *Animal Feed Science and Technology*, 158: 126-135.
- Mould F.L., Kliem K.E.K., Morgan R., Mauricio R.M. 2005. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 31-50.
- Ramos S., Tejido M.L., Ranilla M.J., Martínez M.E., Saro C., Carro M.D. 2009. *Journal of Dairy Science*, 92: 5659-5668.
- Sylvester J.T., Karnati S.K.R., Yu Z., Newbold C.J., Firkins J.L. 2005. *Journal of Dairy Science*, 88:2083-2095

## **SESIÓN C3**





## REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL CALCIO: HIPOCALCEMIA EN POSTPARTO

Cherif Espinosa, Nora; Delgado Uribe, Katherine Brisset; Rodríguez Alonso, Carolina M<sup>a</sup>.

Tutor: Jimeno Vinatea, Vicente.

*Departamento de Producción Agraria, EUIT Agrícolas, Universidad Politécnica de Madrid.*

*Correo electrónico: canene95@hotmail.com, kat\_bdu@hotmail.com, nora.cherif.espinosa@alumnos.upm.es, vicente.jimeno@upm.es*

### RESUMEN

En este trabajo se va a explicar la importancia fisiológica y metabólica de la regulación del calcio en animales de alta producción lechera y las hormonas que controlan la homeostasis, así como la deficiencia de este macromineral que provoca la hipocalcemia.

**Palabras clave:** Calcio, hipocalcemia, metabolismo.

### ¿QUÉ ES LA CALCEMIA?

La calcemia se puede definir como una concentración de calcio total de 10 mg/dL en la sangre de los mamíferos. Dicho nivel puede variar en función de las especies animales, la edad, la dieta y los métodos analíticos utilizados en su medición.

Además contiene sales minerales, proteínas, lípidos, productos de desecho y glucosa. La sangre se compone de una parte sólida y de una parte líquida. La primera la forman células (glóbulos rojos, blancos y plaquetas). La segunda, la parte líquida, es lo que se denomina plasma sanguíneo o suero, en el cual están disueltos todos los minerales necesarios para el correcto mantenimiento del animal y que principalmente está formado por agua.

El calcio, al ser un mineral, se encuentra por tanto disuelto en el plasma sanguíneo en tres formas o fracciones:

- **Unido a proteínas**, que representa un tercio del calcio sérico total y que no es útil por los tejidos ya que no puede atravesar las membranas celulares de éstos.
- **Libre o iónico**, que es el físicamente activo (es decir, el que realiza funciones en el organismo con respecto de los otros dos tipos de calcio, como las contracciones musculares o la coagulación de la sangre además de la formación de los huesos). En cuanto a cantidad, se encuentra entre el 50 y el 60% de la concentración total del calcio (si la cantidad normal está en 10 mg/dL, hay entre 0'5 y 0'6 mg/dL de calcio iónico). Su correcto control en cuanto a concentración iónica en el suero es muy importante para la salud animal, ya que debe mantenerse en los niveles anteriores sino puede dar lugar a enfermedades metabólicas como la hipocalcemia. Cabe decir que el **calcio** tiene **función neurotransmisora** entre el sistema nervioso y muscular por lo que si esta relación no es correcta provocaría serios problemas, como por ejemplo una mala transmisión nerviosa. Además de una mala coagulación de la sangre o incorrecta regulación de la actividad de muchas hormonas.



- La última fracción sería en la disposición de **quelatos cálcicos** unidos a fosfatos, bicarbonatos, citratos y lactatos en una concentración del 10% no libre. Esto quiere decir que no es directamente utilizado por las células, sino que si hay necesidad de calcio, éste se va desprendiendo lentamente de dicho compuesto químico complejo.

## HORMONAS

Los mecanismos de regulación de la concentración de calcio activo para que éste sea constante (**control homeostático**) está vinculado a tres hormonas. Estas son:

- La **hormona paratiroidea (PTH)**. Es una hormona proteica sintetizada y almacenada en las células de la glándula paratiroides, que se activa al detectar niveles bajos de calcio iónico (por debajo de los 10 mg/dl en sangre). Su acción biológica consiste principalmente en activar los osteoclastos (un tipo de células), que se van a encargar a su vez de movilizar el calcio de la parte blanda de los huesos hacia el torrente sanguíneo. También se encarga de absorber calcio a través del intestino gracias a que de forma indirecta regula la síntesis del metabolito activo de la vitamina D para llevar a cabo dicha absorción.
- La **Vitamina D**. Puede considerarse en este caso como una hormona, aunque también sea un lípido esteroide. En el ganado procede principalmente de una conversión fotoquímica del metabolito 7-dehidrocolesterol a vitamina D3 tanto en la piel por acción de la luz ultravioleta como de las plantas por conversión fotoquímica del ergosterol a vitamina D2. Una vez que la vitamina D (D2, D3 o ambas) entra en la sangre, circula en bajas concentraciones por el organismo, debido a su rápida acumulación en el hígado, donde se convierte en 25-OHD3. Éste esteroide irá al riñón donde se transformará por hidroxilación en el calcitriol (1,25 (OH) 2D). De esta manera la vitamina D ya está disponible para hacer su función biológica, que junto con la PTH, consiste en regular la homeostasis de calcio y fósforo, aunque una alta concentración sanguínea de fósforo la inhibe. Hay que objetar que dicha regulación por parte de la vitamina D se hace principalmente en el intestino, a partir de la dieta.
- La **calcitonina (CT)**. Es una hormona polipeptídica de 32 aminoácidos secretada por las células parafoliculares de la glándula tiroides en mamíferos. Su papel fisiológico consiste en responder a la hipercalcemia, es decir, una alta concentración en plasma sanguíneo de ión calcio, actuando sobre las células diana de los huesos y el riñón. Hay ocasiones en las que pueden ocurrir hiperplasias (aumento de tamaño) de las células parafoliculares si el organismo está expuesto a hipercalcemia durante un período largo de tiempo.

Hay que destacar que si la **PTH** era estimulada por una **hipocalcemia**, la **calcitonina** lo es por una **hipercalcemia**. Con ello se pretende decir que ambas son **de efectos antagonistas** en cuanto a la resorción ósea, pero no para la reabsorción renal del fósforo, ya que puede producirse una hipofosfatemia por acción directa de la calcitonina de manera que se movilice mucho más rápido el



fósforo desde el suero hacia el tejido blando y huesos, inhibiendo la resorción ósea estimulada por la PTH.

## HIPOCALCEMIA POSPARTO

### ¿Qué es?

También conocida como **fiebre de la leche o fiebre vitularia**, es una **enfermedad metabólica** provocada por una caída severa en los niveles de concentración de calcio libre (menos de 8 mg Ca/dL) tras el parto por una alta y repentina demanda de este mineral. Se da sobre todo en ganado lechero de alta producción.

### ¿A qué es debido?

Las principales razones por las que se produce son las siguientes:

- Una **dieta rica en calcio y fósforo** en preparto de manera que se produzca una hipercalcemia e hiperfosfatemia, ya que tanto ese calcio como ese fósforo sobrante van a ir a la producción de calostro y leche (principalmente).
- **Deficiencia en vitamina D**, que como se ha dicho anteriormente, ésta vitamina junto con la PTH ayuda a mantener la homeostasis del calcio y del fósforo.
- Una **DCAD** (diferencia de anión catión dietario) bastante considerable en la ración de preparto

### Epidemiología

- En vacas, ovejas y cabras multíparas en lactación.
- Se da a las 24 horas tras el parto.

### Sintomatología

Alteraciones en el comportamiento y en la locomoción, animales inquietos y excitables, caminar vacilante, caídas, postración sobre el vientre, incapacidad para levantarse, pérdida de la motilidad ruminal.

### Etapas de la hipocalcemia

En la hipocalcemia podemos distinguir entre la hipocalcemia subclínica y la clínica.

En la subclínica comienza el desarrollo de la enfermedad que se divide en dos etapas y en la clínica presenciamos la última etapa de la hipocalcemia además de la postración del animal, y estas son:

1. La vaca permanece de pie, pero presenta signos aparentes de la enfermedad como excitación, temblores en las extremidades. No come y se mueve poco. Es difícil identificar la enfermedad en esta etapa.
2. El animal adquiere la posición de decúbito esternal. La vaca está apática y presenta un desplazamiento del cuello o la cabeza hacia el costado. El animal es incapaz de sostenerse por sí mismo. Se aprecia éstasis ruminal y la relajación anal.
3. El animal adquiere la posición de decúbito lateral. Disminuye su temperatura corporal y consecutivamente el sistema cardiovascular. Durante esta etapa se presencia la muerte del animal.

### Tratamiento

- Métodos profilácticos: se debe limitar el aporte de calcio y potasio en la dieta de preparto. Además de incluir sales aniónicas para DCAD negativa



- Protocolo curativo: calciterapia parenteral, mediante aplicación intravenosa de 500 mL de borogluconato de calcio cada 8 horas.

### CONCLUSIONES

- Al aproximarse el momento del parto en la vaca lechera, se producen ajustes: regular la concentración sanguínea de calcio. Cuando estos mecanismos fallan, disminuye el calcio sanguíneo, dando lugar a hipocalcemia. Esta puede ser subclínica, manifestándose a través de otras patologías, o clínica, dando una manifestación característica: decúbito, pudiendo llegar a la muerte.
- De una forma u otra es importante prevenir la aparición de la enfermedad, a través de un buen manejo nutricional de los animales. El mismo puede ser complementado con la administración de fósforo, previo al parto, para provocar una salida del calcio de los huesos y así elevar la calcemia. Después del parto, administrar calcio con el objetivo de prevenir una hipocalcemia que nos lleve a “una vaca caída”.
- En aquellos animales que tengamos antecedentes de manifestar la enfermedad, prestar mayor atención y si se presenta hacerlo cuanto antes. Sus funciones estimuladoras y reanimantes se asocian no solo a su aporte de calcio, sino también al fósforo, glucosa y magnesio presentes en su formulación. Se usa para prevención y tratamiento.

### BIBLIOGRAFÍA

**Documentación complementaria.** Asignatura Sistemas de la Producción Animal I. Principales patologías infecciosas y metabólicas en bovino, ovino y caprino. EUIT Agrícola. UPM. Curso 2014-2015. Autor: Jimeno Vinatea, Vicente.

**Documento digital.** The Merck Veterinary Manual. 27-02-2015

**Revista.** Journal of Dairy Science Vol.96: Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows W.G. Chamberlin, J.R. Middleton, J.N. Spain, G.C. Johnson, M.R. Ellersieck, P. Pithua





## DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA ZONIFICACIÓN DE HAITÍ EN FUNCIÓN DEL RIESGO POTENCIAL FRENTE A BROTES DE CÓLERA

De Jesús, Frami; Polanco, Yosemite; De Los Santos, Lucrecia;

Tutor: Hernández Díaz-Ambrona, Carlos Gregorio

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*  
frami.dejesus@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Este trabajo trata de desarrollar, mediante la utilización de programas de información geográfica, una metodología para la zonificación de Haití en función del riesgo potencial frente a brotes de cólera. En conclusión la combinación de proyección y conocimientos de casos de contagio de cólera son elementos cruciales para optimizar rápidamente y con menor coste la salud poblacional.

**Palabras Claves:** *Agua, ArcGis, Epidemia*

### INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud se calcula que cada año hay de 3 a 5 millones de casos de cólera, y entre 100.000 y 120.000 defunciones en 50 países en el mundo. África es la región más afectada. Sin embargo, la propagación del cólera en Haití, país con graves problemas de sanidad, ha causado desde 2010 cerca de 600 mil casos diagnosticados y 7.500 defunciones (la incidencia ha sido de 5.941 casos por 100.000 habitantes), estos hechos han ubicado a la Región de América como el primer lugar en morbilidad y mortalidad por cólera. Los datos anteriores demuestran la importancia del cólera en la salud pública en el mundo y, la amenaza que representa a los países que actualmente se encuentran libres de este padecimiento.

La epidemia de cólera en Haití se inició en octubre de 2010. El primer caso se detectó en el Departamento Central, y la infección se ha extendido al vecino Departamento *Artibonite* antes de avanzar a todos los demás departamentos del país.

El objetivo principal es desarrollar, mediante la utilización de programas de información geográfica, una metodología para la zonificación de Haití en función del riesgo potencial frente a brotes de cólera. Para dar respuesta a este objetivo se va a representar geográficamente identificando las zonas donde se proyecte casos de cólera.

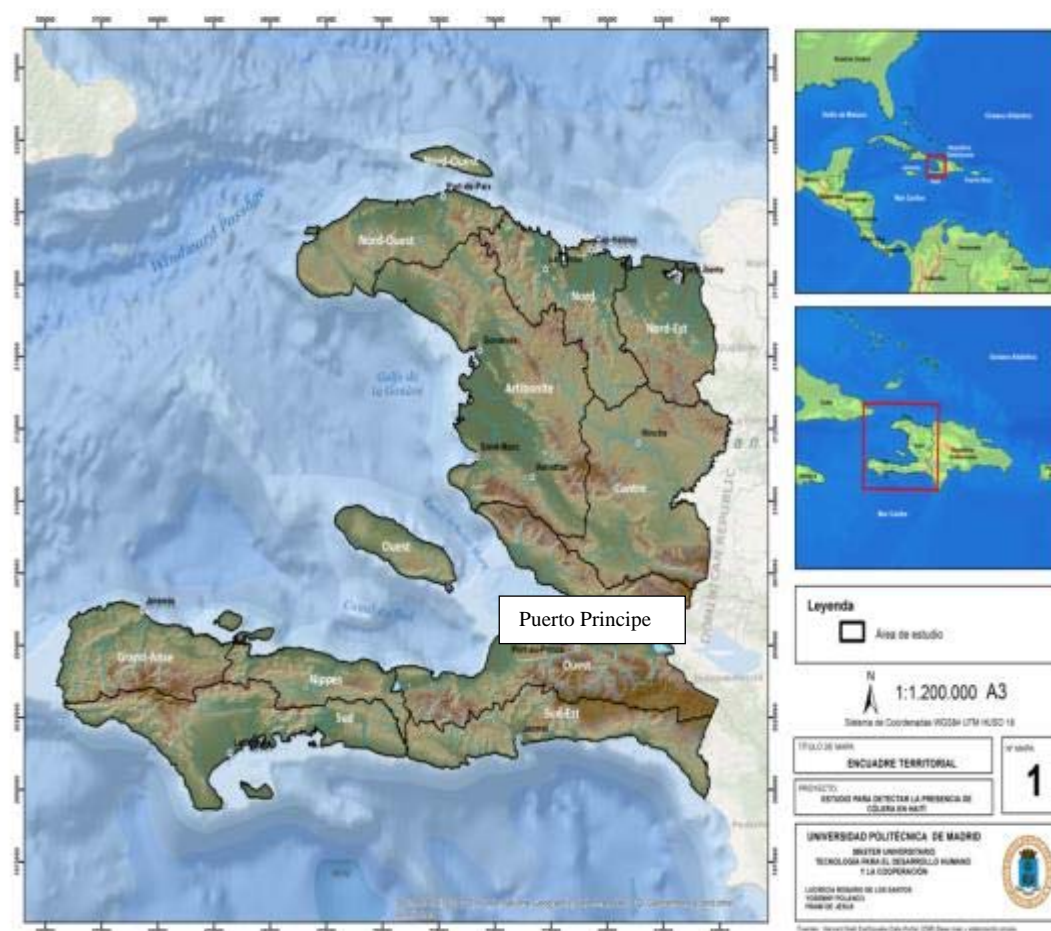
### METODOLOGÍA

La Figura 1 muestra la localización general del ámbito de estudio (Haití), con los principales límites administrativos, ciudades y su hidrología principal. Se han diseñado y creado los mapas de las zonas donde se presentan cólera en Haití con la herramienta GIS (Geographic Information Systems 2014) y las tablas de riesgos (Tabla 1 y 2) en las cuales se han establecido rangos de riesgo para determinar a menor y mayor escala qué provincias son propicias de contagio.

En primer lugar, en este análisis se han identificado las variables críticas: temperaturas (Tabla 1) y distancias a agua potable (Tabla 2).



Figura 1. Encuadre Territorial e hidrografía principal



Fuente: Elaboración propia con ArcGis 10.1

Tabla 2. Rango de variable “Temperatura” con sus respectivos riesgos 2014.

| TEMPERATURA media anual | RIESGO       |
|-------------------------|--------------|
| 13 – 20 °C              | BAJO         |
| 21 – 25 °C              | MEDIO        |
| 25 – 29 °C              | MEDIO – ALTO |
| > 29 °C                 | ALTO         |



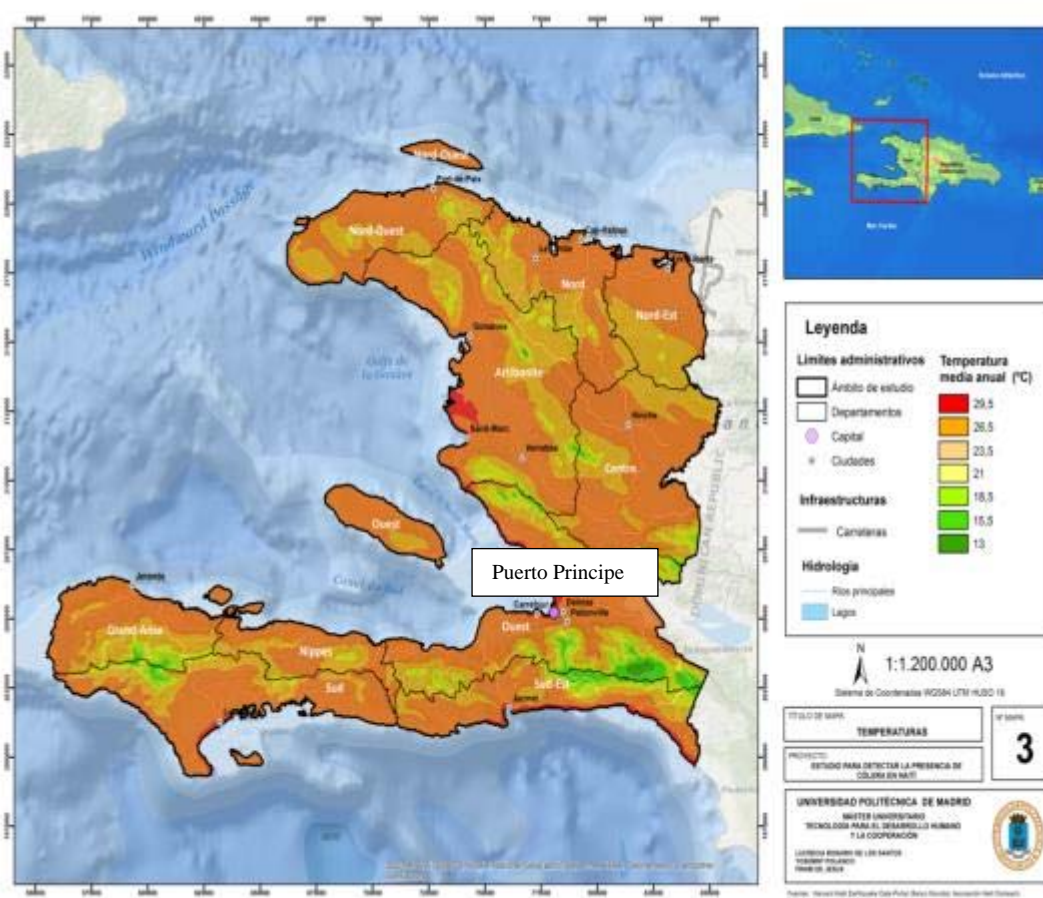
**Tabla 3. Rango de variable “distancia a agua potable” con sus respectivos riesgos 2014.**

| DISTANCIAS    | RIESGO |
|---------------|--------|
| 0-1000 m      | BAJO   |
| 1000 – 2000 m | MEDIO  |
| >2000 m       | ALTO   |

## RESULTADOS

La Figura 2 muestra la distribución de la temperatura en Haití en grados centígrados. El rango de temperaturas medias anuales del país va desde los 13°C de las zonas más altas a los 29,5°C de las zonas costeras y más protegidas.

**Figura 2. Riesgo a la propagación del cólera en función de la temperatura media anual (Rojo: Riesgo alto y Verde: Riesgo bajo).**



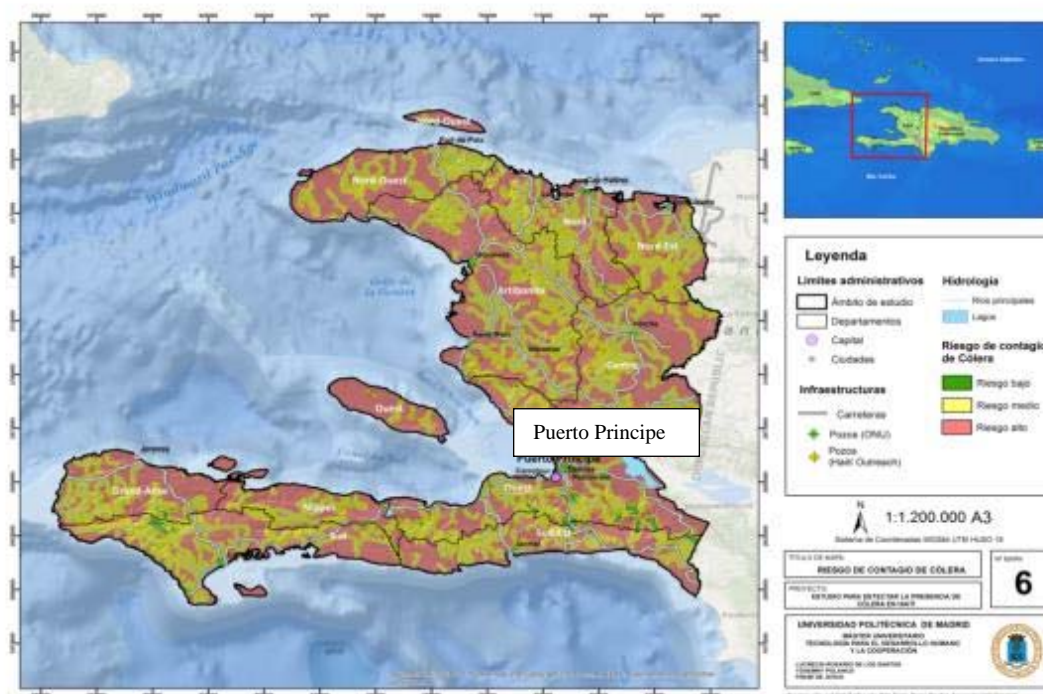
Fuente: Elaboración propia con ArcGis 10.1



En la Figura 2, se muestran las zonas afectadas con el cólera en función de las temperaturas en las mismas (debido a la propagación de la bacteria del cólera, cuánto mayor sea la temperatura, habrá más exposición a la identificación de casos de cólera en la zona). El departamento *Artibonite* tiene la zona de mayor riesgo, lo que corroboraría la rápida propagación del cólera desde el departamento *Centre* y *Artibonite* en el evento del 2010.

Una vez clasificados los valores se han combinado con la ayuda de los GIS obteniéndose el mapa de riesgo de cólera (Figura 3). Como puede verse en el mapa la mayor parte del territorio presenta un riesgo medio-alto.

**Figura 3. Mapa de riesgo de cólera en Haití.**



Fuente: Elaboración propia con ArcGis 10.1

## CONCLUSIONES

La combinación de proyección y conocimientos de casos de contagio de cólera son elementos cruciales para optimizar rápidamente y con menor coste la salud poblacional.

## BIBLIOGRAFÍA

Gerald L. Mandell, Raphael Dolin, John. E. Bennett Elsevier, 10 de sept. de 2011, Enfermedades Infecciosas. Principios y prácticas, 4128.  
Mata Jiménez, Leonardo de Jesús, 1992, Cólera" Historia, Prevención y control", 384.



## CARACTERIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS DE BRASIL CON UN ESPECTROFOTÓMETRO VERIS VIS-NIR

Santana, Nuria<sup>1</sup>; Tonini Eitelwein, Mateus<sup>2</sup>

Tutores: Barreiro, Pilar<sup>1</sup>; Molin, José Paulo

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia de Biosistemas. ESALQ. Universidade de São Paulo

nuria.svega@alumnos.upm.es; mateus\_eitelwein@outlook.com.

### RESUMEN

La distribución de nutrientes del suelo presenta una gran variabilidad. Algunos estudios indican la interdependencia entre atributos físico-químicos, concluyendo que se necesitan muestreos densos para caracterizar eficientemente la distribución espacial. Para la realización de este trabajo experimental se han empleado datos tanto espectrales, obtenidos con el espectrofotómetro Veris Vis-NIR, como de referencia, mediante análisis de laboratorio, correspondientes a 341 muestras de suelo de 41 ha. Para ambos tipos de datos se ha realizado un análisis de componentes principales (PCA), y un análisis de Conglomerados (Clúster). En las variables de referencia se escogieron aquellos atributos con mayor coeficiente de variación: arcilla, potasio, fósforo, calcio, magnesio, materia orgánica y capacidad de intercambio catiónica efectiva. El objetivo principal es establecer las necesidades mínimas de muestreo comparando los resultados obtenidos con plantillas cartesianas de distinta resolución, y determinar la relación existente entre la cantidad de nutrientes y la reflectancia espectral Vis-NIR.

**Palabras clave:** agricultura de precisión, nutrientes, sensor de suelo.

### INTRODUCCIÓN

La Agricultura de Precisión (AP) es un sistema de gestión de la producción basado en un conjunto de tecnologías capaces de considerar la variabilidad espacial en campo (Molin, 2011), se trata de “efectuar la intervención agrícola correcta, en el momento adecuado y en el lugar preciso” (Valero et al. 2010). La AP se encuentra en constante desarrollo, siendo el análisis y el control de insumos una línea estratégica orientada a la reducción de costes, a la mejora de la productividad de los cultivos y a la disminución del impacto ambiental. A pesar de presentarse la AP como una de las mejores herramientas a utilizar en los sistemas de producción actuales, existen barreras técnicas que impiden la plena implementación: la intensificación de la información; el déficit en criterios de selección en los procedimientos a aplicar y en las estrategias a seguir, y la labor costosa en tiempo e inversión que supone la obtención de datos relativos al suelo, cultivo y condiciones ambientales.

El concepto fundamental y pilar básico en el que se basa la AP es la existencia de variabilidad intraparcelsaria, cuya georreferenciación se basa en el empleo de DGPS (*Differential Global Positioning System*), visualizándose en los SIG (Sistemas de Información Geográfica) para generar los mapas. La información representada puede obtenerse mediante detección remota (empleando imágenes tomadas por cámaras de visión artificial o capturadas por espectroradiómetros), o mediante registro a nivel del terreno (muestreo combinado con análisis de laboratorio o empleo de sensores a bordo de equipos móviles).

En cuanto a los sensores, en las últimas décadas varias marcas han desarrollado diferentes sensores eléctricos y electromagnéticos, electro-químicos, mecánicos, ópticos, acústicos y neumáticos, teniendo la mayoría de ellos como característica común su sensibilidad a más de un factor agronómico del suelo (Barreiro, 2007).

Las principales casas comerciales de sensores eléctricos y electromagnéticos son Veris (3100), Geocarta (ARP), Geonics (EM31 y EM38) y Geophex (GEM-2), estos sensores determinan la conductividad eléctrica aparente (ECa), que es un promedio de la circulación eléctrica por las tres fases distintas del suelo: la fase líquida con nutrientes





disueltos, la fase sólido-líquida debida al intercambio de cationes de arcillas y minerales, y la fase sólida derivada del contacto físico entre partículas sólidas del suelo. Dentro de estos sensores podemos encontrar dos tipos: los que realizan las mediciones en contacto con el suelo, y los que no tienen contacto con el suelo (Grisso et al., 2009). En cuanto a sensores electroquímicos se dispone de ejemplos que miden pH, generalmente usados en laboratorio, aunque Veris comercializa un dispositivo que realiza la medida directa en el suelo. El desarrollo de sensores ópticos parte del análisis de la interacción de la radiación electromagnética con la materia en el área del espectro manipulada con lentes. Históricamente en la caracterización del suelo agrícola se ha empleado el espectro visible (Vis, 400-700 nm), y más recientemente el infrarrojo cercano (NIR, 700-2400 nm), banda donde los grupos funcionales C-H, N-H y O-H absorben energía, siendo por tanto muy útil para cuantificar distintas formas de carbono, nitrógeno y agua, respectivamente. La determinación espectral del suelo en condiciones dinámicas requiere el empleo de una ventana transparente de zafiro (resistente a al deterioro), instalada en la base de una reja. Estos sistemas requieren un proceso de calibración frecuente (Barreiro, 2007). Existen dos marcas con productos comerciales en desarrollo basados en este tipo de sensores: una es Shibuya (Kodaira y Shibusawa, 2013), y la otra es Veris (Barreiro, 2007; Schirrmann et al., 2013; Eitelwein et al., 2014).

La casa comercial Veris de origen universitario ya dispone en el mercado sensores eléctricos, electro-químicos y ópticos para caracterización de conductividad eléctrica (EC), pH y materia orgánica (MO) respectivamente; estos dispositivos se pueden adquirir tanto individualmente como en plataformas multi-sensor. Las más habituales son: EC-MO, EC-pH y MPS-3 para las medidas de EC, MO y pH.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se emplearon 341 muestras recogidas en un área de 41 hectáreas en el municipio de Boa Vista das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil. Las muestras se analizaron de forma convencional en el laboratorio de Fertilidad del Suelo de la Universidade Federal de Santa María, *campus* Frederico Westphalen, Rio Grande do Sul, Brasil. Los parámetros de referencia analizados en el suelo fueron: arcilla, pH, SMP, Al, P, K, Ca, MO, suma de H y Al (HAl), suma de bases, capacidad de intercambio catiónica (CIC7), capacidad de intercambio catiónica efectiva (CICef), saturación de Al, saturación de bases, saturación de Ca, saturación de Mg, saturación de K, relación Ca-Mg, y relación Ca-Mg-K.

Las lecturas espectrales se realizaron con el equipamiento Veris Vis-NIR Spectrophotometer (Veris Technologies Inc., Salina, Kansas, EEUU) que cuenta con dos espectrofotómetros integrados que realizan lecturas simultáneas en las bandas de 350 nm a 2.200 nm con resolución espectral de 8 nm. Para llevar a cabo las lecturas, el equipo que se comercializa para su uso directo en campo, se instaló sobre una mesa de trabajo en el Laboratorio de Agricultura de Precisión (LAP) de la ESALQ-USP (Figura 1). Se realizaron de 3 a 5 lecturas por muestra de suelo, cogiendo submuestras para cada lectura, obteniéndose un total de 1118 espectros.

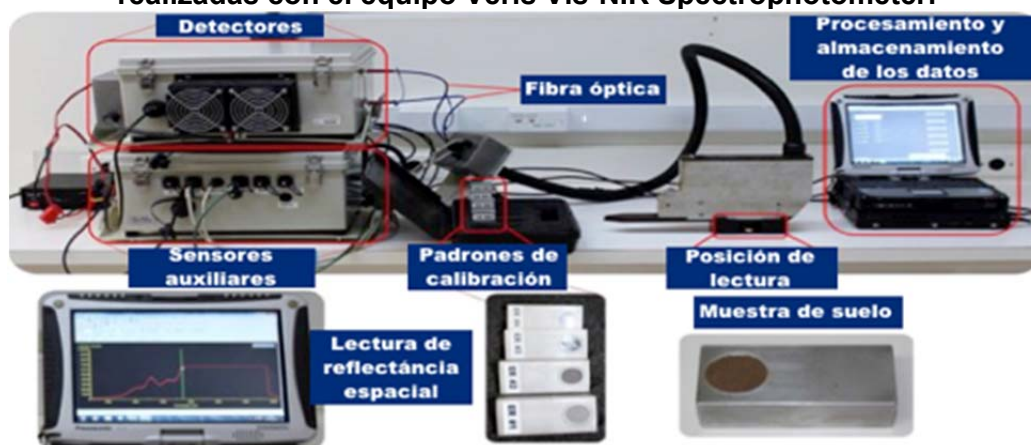
Se han analizado por separado los parámetros de referencia y los espectrales, para ambos tipos de datos se ha realizado un análisis de componentes principales (PCA), y un análisis de Conglomerados (Clúster) (Figura 2). De los 20 parámetros de referencia se eligieron aquellos que mostraron mayor variabilidad: Fósforo, Magnesio, Calcio, Potasio, CIC efectiva, Materia Orgánica y Arcilla (coeficiente de variación entre 36%-9%). Con ellos se llevó a cabo un PCA que permite establecer unas líneas de comportamiento de los iones en el suelo (79,2% de varianza explicada con 4 componentes).

El primer componente principal REF\_PC1 contiene información referente a la CICef con un peso del 25.5%. El REF\_PC2 representa un 22.5% de la información y se relaciona con el contenido de potasio, calcio y magnesio. El REF\_PC3 con 17.3% de la varianza total aglutina el contenido en arcilla, calcio y fósforo. Y por último el REF\_PC4 (13.9%



varianza) representa el contenido en calcio y materia orgánica. La tabla 1 muestra los valores medios en REF\_PC para 5 clústers de referencia realizados por K-means.

**Figura 4. Dispositivo para las lecturas de reflectancia espectral (Vis-NIR) del suelo realizadas con el equipo Veris Vis-NIR Spectrophotometer.**



**Tabla 4. Valores medios en REF\_PC para 5 clústers de referencia.**

| Plantilla (mxm) | PC1 (CIC)     | PC2 (Ca, K, Mg) | PC3 (Ar, Ca, P) | PC4 (Ca, MO)  |
|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------|
| C1              | -0.7464       | -0.929          | -0.4349         | -0.1552       |
| C2              | 0.1027        | <b>1.0216</b>   | <b>0.2891</b>   | -0.4756       |
| C3              | -0.3467       | <b>0.3358</b>   | -0.1339         | <b>0.6674</b> |
| C4              | <b>2.4721</b> | -0.8235         | <b>0.3934</b>   | <b>0.3973</b> |
| C5              | -0.1313       | <b>0.6193</b>   | <b>0.4828</b>   | <b>0.4524</b> |
| F               | 92.05         | 73.26           | 9.93            | 19.95         |
| Varianza        | 1.7833        | 1.5742          | 1.2126          | 0.9701        |

*\*Observación: lo resaltado en negrita se refiere a relación positiva, lo resaltado en cursiva lo hace a relación negativa y el resto se refiere a una relación de baja intensidad.*

Posteriormente se realizó otro PCA sobre la información espectral (1118 espectros), tras el cual se desecharon los espectros de tendencia anormal, seleccionando un conjunto de 1072 espectros.

Con estos se obtuvieron cinco componentes principales. A continuación se realizó una agrupación no supervisada (análisis de clúster) en forma de dendograma en el que la información espectral se agrupa en un número reducido de categorías. La figura 2 resume el procedimiento seguido, la columna de la izquierda respecto a los espectros y la de la derecha a las referencias.

**Figura 5. Procedimiento de análisis de datos.**



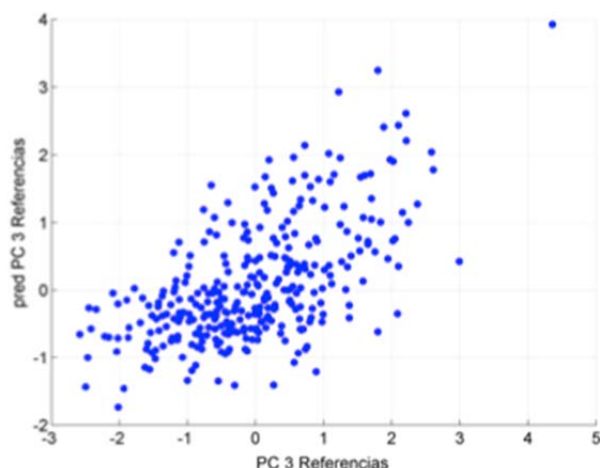
Se ha realizado una modelización mediante regresión de cuadrados parciales (PLS) tanto de los REF\_PC como de los parámetros de referencia seleccionados del suelo usando como variables independientes la información espectral. Todos los análisis se realizaron mediante el software MatLAB, versión 2013a (MathWorks).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El mejor resultado en la modelización (SEP=0.91) se ha obtenido para la estimación combinada de fósforo, calcio y arcilla (PC3\_REF), según se aprecia en la figura 3.

**Figura 6. Modelización del PC3 de los datos de referencia**



Las longitudes de onda que más contribuyen al modelo son: 420 nm, **650-700 nm**, 1413 nm, 1924 nm y 2153 nm.

En relación al muestreo, el empleo de clústers con los valores de referencia indica que con menos de una muestra por hectárea (plantilla de 100 m) se pierde la información relativa a la variabilidad espacial (Tabla 2).

Ningún modelo de estimación de parámetros individuales del suelo en este ensayo alcanza los resultados mostrados previamente (Figura 3). Los próximos pasos se centrarán en verificar el efecto de nuevos pretratamientos de los espectros en la

calidad de la modelización, y en establecer mapas de representación y zonas de gestión de la variabilidad espacial.

**Tabla 5. Valores de clúster por plantilla, en tanto por ciento.**

| Plantilla (mxm) | C1    | C2    | C3    | C4    | C5    |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 50              | 29.27 | 65.85 | 0     | 0     | 4.88  |
| 75              | 66.22 | 9.46  | 0     | 1.35  | 22.97 |
| 100             | 13.16 | 0     | 0     | 68.42 | 18.42 |
| 125             | 0     | 0     | 0     | 73.08 | 26.92 |
| 150             | 0     | 0     | 18.75 | 75    | 6.25  |
| 175             | 0     | 0     | 100   | 0     | 0     |
| 200             | 0     | 0     | 100   | 0     | 0     |

### AGRADECIMIENTOS:

A la ESALQ-USP por darme la oportunidad de cursar un año en dicha institución. Al Laboratorio de Agricultura de Precisão (LAP/ESALQ-USP) y al gMAP por ceder el material y las instalaciones. Y al Profesor José Paulo Molin por supervisar el trabajo allí realizado durante mi estancia.

### BIBLIOGRAFÍA

- Barreiro P. 2007. Vida rural 260: 38-42
- Eitelwein M.T., Besson D.G.A., Muniz R.A., Trevisan R.G., Vettorazzi C.A. Molin J.P. 2014. Congreso Brasileiro de agricultura de Precisão-ConBAP. Ribeirão Preto-SP, Brasil.
- Grisso R., Alley M., Holshouser D., Thomason W. 2009. Virginia Cooperative Extension Publication 442-508.
- Kodaira K., Shibusawa S. 2013. Geoderma, 199: 64-79.
- Molin J.P. 2011. Agricultura de Precisão Boletim Técnico: 5-27.
- Schirrmann M., Gebbers R., Kramer E. 2013. Vadose Zone Journal, 12(4).
- Valero C., Navas L.M., González F., Gómez J., Ruiz G., Barreiro P., Andújar D., Diezma B., Báguena E., Garrido M. 2010. Ahorro y Eficiencia Energética en la Agricultura, 16.
- N/D. 2012. Veris Technologies Inc.-White Paper.





## HEMP (*CANNABIS SATIVA L.*) AS A BIOACCUMULATOR FOR SOILS CONTAMINATED WITH HEAVY METALS

López García, Francisco José

Tutor: Moliner Aramendia, Ana María

Departamento de Producción Agraria. ETSI Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

francisco.lopez.garcia@alumnos.upm.es

### ABSTRACT

The feasibility of phytoextraction of heavy metals from contaminated soils using hemp (*Cannabis sativa*) was studied. Several authors demonstrate that this plant accumulates large amounts of metals (300.28 mg Cd/kg of plant) and presents an outstanding tolerance to heavy metals such as cadmium. Even though other studied phytoaccumulators like *Thlaspi caerulescens* presented greater capacity to store high quantities of metals in their shoots (up to 3000 mg Cd/kg of plant), hemp could be used, alone or with the help of some chelators, to remediate soils with concentrations that would not allow these other plants to develop properly (up to 200 mg Cd/kg soil). Also, contrary to other species studied, hemp provides additional uses for the biomass after the phytoextraction process.

**Keywords:** *hemp, bioaccumulation, heavy metals*

### INTRODUCTION

Soil pollution with heavy metals is a widespread problem that causes considerable threats to the environment. An important example of this is the increasing number of agriculturally used areas that are contaminated by anthropogenic-derived pollutants, and consequently, not suitable for food production (Linger et al., 2002).

According to Kos & Leštan (2004), some of the most harmful heavy metals that end up in soils are lead (Pb), zinc (Zn), nickel (Ni), chromium (Cr) and cadmium (Cd). Their concentrations have increased throughout the 20th century because of mining and atmospheric deposition from Pb and Zn smelting, and soil applications of sludges, mineral fertilizers and pesticides.

Even though some heavy metals are considered essential nutrients for plants and other forms of life, excessive concentrations of Pb, Cd and Zn are phytotoxic for soil and have adverse effects on crops, livestock and man (Oliver, 1997).

Linger et al. (2002) describe phytoextraction as the use of higher plants to remove inorganic contaminants, primarily metals, from polluted soil. These plants, called bioaccumulators or phytoaccumulators, extract the toxic substances and accumulate them in the upper parts of the plant. The plants are then harvested, and consequently the toxic substances are removed from the soil (Linger et al., 2002).

Some authors (Shi et al., 2012; Kos & Leštan, 2004) agree with the benefits of using *in situ* phytoextraction instead of *ex situ* remediation techniques, because it is cost-effective, does not harm the environment and conserves the quality of the remediated soil. However, some of those same authors (Shi et al., 2012) highlight the cons of this remediation approach, such as its dependence on physical and chemical soil characteristics, the very slow velocity of the remediation process, the inability of using the soil while the phytoextraction is taking place and the fact that most of the plants that can be used for phytoremediation are herbs with small biomass, which have little economic value and cannot be used after the process.



## HEMP AS A BIOACCUMULATOR

Some characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) make it a very suitable plant for bioaccumulation, but first of all, it is important to note the differences between marijuana and industrial hemp.

According to Datwyler & Weiblen (2006) cannabis can be separated into psychoactive and non psychoactive cultivars according to the ratio of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC), the primary psychoactive agent, and cannabidiol (CBD). Industrial hemp plants have a relatively low THC:CBD ratio compared to marijuana, and thus, they can be considered non psychoactive.

As Shi et al. (2012) claim, hemp is a fast-growing and high biomass producing plant species, which has been traditionally grown as a multiple-use crop and recently considered as an energy crop. Citterio et al. (2005) indicate that the possibilities of easily growing hemp in different climates and using its biomass in non-food industries could make heavy metal contaminated soils productive, and, although slowly, restore them at the same time.

Cannabis can be separated into psychoactive and nonpsychoactive cultivars according to the ratio of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC), the primary psychoactive agent, and cannabidiol (CBD). Hemp plants have a relatively low THC:CBD ratio compared with marijuana.

Nevertheless, there are different opinions about hemp being considered as a phytoaccumulator or just a plant with a high metal tolerance: on the one hand, during a former study performed by Kos et al. (2004) 14 plants were examined for their phytoextraction potential for Pb, Zn and Cd in ethylenediamine tetraacetate (EDTA) and phytoextraction induced by the addition of the chelator [S,S]-EDDS ([S,S]-stereoisomer of ethylenediamine-disuccinate). Hemp in [S,S]-EDDS treatments was found to be the most effective phytoextractor among the 14 plants studied.

On the other hand, Linger et al. (2002) and Citterio et al. (2003) did not really consider hemp as a phytoaccumulator. They defined hemp as an organism with a high metal tolerance that has evolved mechanisms allowing it to cope with very high metal concentration in soil, and even though the amount of Cd and Ni accumulated in its shoot was not negligible, it was not either as high as in other species growing under optimal conditions.

### COMPARISON OF DIFFERENT STUDIES USING HEMP AS A HEAVY METAL BIOACCUMULATOR

The five studies cited in this literature review focus on the analysis of the bioaccumulator potential of hemp, each with a different emphasis.

For example, Linger et al. (2002) not only studied the phytoremediation potential but also the fiber quality of hemp after the accumulation process; Meers et al. (2005) compared the phytoextraction of heavy metals from calcareous dredged sediment derived soils between hemp and other crops like *Brassica Rapa* and *Zea Mays*; Kos & Leštan (2003) analyzed the soil washing of Pb, Zn and Cd with hemp phytoextraction combined with the use of biodegradable chelators and permeable barriers; Citterio et al. (2005) studied how the combination of mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in hemp roots affects growth and metal accumulation changes; and Shi et al. (2012) compare the tolerance to cadmium and its bioaccumulation in 18 hemp plants.

All cited studies were performed in the field except for the Meers et al. (2005), who



compared four agronomic species, with or without application of EDDS or EDTA, in a greenhouse.

All five studies measured the amount of cadmium extracted by hemp plants, each of them utilizing different methods. The disparity of the quantifying methods may have led to the large variation in results. For example, in various studies, metal concentrations were quantified in the plant and soil samples using the USEPA 3051a protocol (Linger et al., 2002; Meers et al., 2005; Citterio et al., 2005), and chemical analyses were carried out by graphite furnace atomic absorption spectroscopy (Citterio et al., 2005; Linger et al., 2002).

A different study used two methods: measurements of the cadmium concentration in the plants using flame atomic absorbance spectrometry after digestion with mixed acid, while the cadmium tolerance of hemp via a chlorophyll concentration analysis was evaluated using UV-vis spectrophotometers, according to the method of Lichtenthaler (Shi et al., 2012).

**Table 1. Maximum amount of cadmium accumulated by hemp in each study.**

|   | <i>Linger et al.</i><br>(2002) | <i>Meers et al.</i><br>(2005) | <i>Kos &amp; Leštan</i><br>(2004) | <i>Shi et al.</i><br>(2012) | <i>Citterio et al.</i><br>(2005) |
|---|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| <b>Max Cd accumulated<br/>(mg/kg plant)</b> | 126                            | 0.34                          | 330.28                            | 33.3                        | 0.197                            |

The results are quite variable between each group of investigators (Table 1), with a maximum accumulation of 330.28 mg /kg, in combination with the use of biodegradable chelators and permeable barriers, achieved by Kos & Leštan (2004).

*Thlaspi caerulescens*, one of the best-studied hyperaccumulators for Cd, has been shown to accumulate 3000 mg/kg of plant (Brooks et al., 1998) under optimal growth conditions, making it phytoextraction potential approximately 16-fold higher than the potential of hemp plants (Linger et al. 2002).

## DISCUSSION

From our review, it may be concluded that the phytoextraction potential of hemp is quite low compared to other phytoaccumulators, so hemp does not seem suitable for heavy metal bioremediation in areas where a more efficient phytoaccumulator is available such as *Thlaspi caerulescens* or *Brassica juncea* (Meers et al., 2005; Shi et al., 2012); Kos & Leštan, 2004).

However, hemp still presents some advantages as a bioaccumulator. To begin with, it grows well under natural conditions, and does not require expensive fertilizers nor time and money-consuming control of optimal growth conditions (Linger et al., 2002). Thus, it could be used to fix heavy metal polluted soils in underdeveloped rural areas, while providing biomass for industrial purposes.

Another point is that most phytoaccumulators like *T. caerulescens* or *B. juncea* do not provide anything that can be used as a raw material for commercial purposes, while hemp has been used for more than two thousand years to make paper and fibers and currently has a broad list of industrial uses, from construction materials to resins or cleaning products. It can also be used as an energy crop, even after using it for bioaccumulation (Citterio et al., 2005).



Last but not least, hemp could be used for bioaccumulation in highly contaminated soils where other phytoaccumulators like *T. caerulescens* and *B. juncea* do not grow, due to its high tolerance to cadmium that makes hemp able to survive in soils with concentrations of up to 200 mg Cd/kg soil (Shi et al., 2012).

### CONCLUSIONS

Even though the phytoextraction potential of hemp is lower than other plants in soils mildly polluted by heavy metals, it presents many pros in certain scenarios, such as in soils highly polluted with cadmium (up to 200 mg Cd/kg soil), where other plants cannot grow, or areas where it would not be economically feasible to grow other plants under optimal conditions for phytoextraction. In addition, the many industrial uses of hemp provide a series of benefits even after its use in bioaccumulation.

### BIBLIOGRAPHY

- Citterio, S., Santagostino, A., Fumagalli, P., Prato, N., Ranalli, P., Sgorbati S., 2003. Heavy metal tolerance and accumulation of Cd, Cr and Ni by *Cannabis sativa* L. *Plant and Soil*, 256: 243-252.
- Citterio, S., Prato, N., Fumagalli, P., Massa, N., Santagostino, A., Sgorbati, S. And Berta, G. 2005. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* induces growth and metal accumulation changes in *Cannabis sativa* L. *Chemosphere* 59 (5): 21-29.
- Datwyler, S. and Weiblen, D. 2006. "Genetic Variation in Hemp and Marijuana (*Cannabis Sativa* L.) according to Amplified Fragment Length Polymorphisms." *Journal of Forensic Sciences* 51 (2): 24-30.
- Kos, B., Grčman, H., Leštan D. 2003. Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. *Plant Soil and Environment Journal*, 49: 548-553.
- Kos B. and Leštan D. 2003. *Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers*. Environ. Sci. Technol., 37: 624-629.
- Kos, B. and Leštan, D. 2004. Soil washing of Pb, Zn and Cd using biodegradable chelator and permeable barriers and induced phytoextraction by *Cannabis sativa* L. *Plant and Soil* 263(4): 43-51.
- Linger, P., Mussig, J., Fischer, H. and Kobert, J. 2002. Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) growing on heavy metal contaminated soil: fibre quality and phytoremediation potential. *Industrial Crops and Products* 16 (2): 33-42.
- Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M., Lesage, E., and Tack, F. 2005. Potential of *Brassica rapa*, *Cannabis sativa*, *Helianthus annuus* and *Zea mays* for phytoextraction of heavy metals from calcareous dredged sediment derived soils. *Chemosphere* 61 (5): 561-572.
- Shi, G., Liu, C., Cui, M., Ma, Y. and Cai, Q. 2012. Cadmium Tolerance and Bioaccumulation of 18 Hemp Accessions. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 168 (12): 163-173.



## APLICACIÓN MÓVIL PARA EL DIAGNÓSTICO DE CULTIVOS

Fernández López-Rey, David

Tutor: Hernández Díaz-Ambrona, Carlos Gregorio

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

david.fernandez.lopez-rey@alumnos.upm.es

### RESUMEN

En este proyecto se estudiaron los requerimientos de diseño y desarrollo necesarios para la creación de una aplicación móvil (*app*) basada en la identificación de las plagas (artrópodos) más importantes del cultivo de tomate en España. La *app* resuelve los problemas a los que se enfrentan agricultores profesionales y aficionados a la hora de identificar plagas, guiando al usuario mediante una sencilla clave dicotómica hasta la identificación. Como valor añadido, la *app* recomienda posibles tratamientos y medidas a seguir, y permite acceder a una página web que, entre otras cosas, recogería información de interés del sector. La actualización de la información y el acceso a la web se realiza a través de la comunicación con un servidor web. Con este proyecto se busca facilitar la toma de decisión y minimizar el uso de recursos así como los costes económicos y ambientales. También se intenta contribuir a conseguir una agricultura más verde, responsable y sostenible, uno de los objetivos de la nueva PAC (2014-2020).

**Palabras clave:** *App, plaga, Solanum lycopersicum L.*

### INTRODUCCIÓN

Las plagas son mencionadas frecuentemente como un obstáculo importante para incrementar la producción de alimentos y para lograr una mayor productividad agrícola. La tierra tiene unos límites, y para dar cabida a la alimentación mundial es necesario buscar alternativas, por ejemplo, mitigando las pérdidas de los cultivos por artrópodos, estimadas en un 16% de la producción (Oerke, 2006).

### TIPOLOGÍA Y NATURALEZA DEL PROYECTO

En primer lugar se estudió el mercado de los cultivos nacionales, con el fin de conocer las cifras de negocio de los principales productos agrícolas del sector y elegir el cultivo sobre el que versaría la *app*. El interés en el valor comercial radica por ser un indicador de la importancia del cultivo a escala nacional, por lo tanto, del número de agricultores que lo cultivan, y de la capacidad de gastos de los mismos. La elección del tomate, frente a la cebada y el trigo de mayor valor comercial en el 2012 según el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2014), se debe a que no solo es el tercero que mayores ingresos da al sector (1215,54 millones de euros en 2012), siendo años atrás el más importante económicamente sino que, además, en todas las provincias se dedica alguna superficie a su cultivo. Por otro lado España ocupa el octavo puesto del ranking mundial en producción y rendimientos (FAO, 2014), y es considerada una de las “huertas” del continente. La actual regulación del uso y aplicación de productos fitosanitarios, unido a una política medioambiental más estricta, hacen necesario el apoyo a nueva tecnología para la toma de decisiones correctas, como facilita esta aplicación. La magnitud del problema que supone las pérdidas por los artrópodos se traduce a 194,48 millones de euros solo en lo que concierne al cultivo de tomate.

Posteriormente se realizó una revisión de las plagas que causan mayores daños a este cultivo en España, para cualquiera de los modelos de producción con el fin de tener mayor difusión. La aplicación incluye a las siguientes plagas: *Tetranychus urticae*, *Aculops lycopersici*, *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Myzus persicae*, *Aphis gossypii*, *Frankliniella occidentalis*, *Nezara viridula*, *Tuta absoluta*, *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera exigua*, *Chrysodeixis chalcites*, *Autographa gamma*, minadores y *Agrotis spp.* De todas ellas se estudiaron sus hábitos, morfología y características particulares, así como los daños que causan y los métodos físicos, biotécnicos y medidas de control (biológicas, culturales y químicas) recomendadas para prevenir o disminuir su presencia.

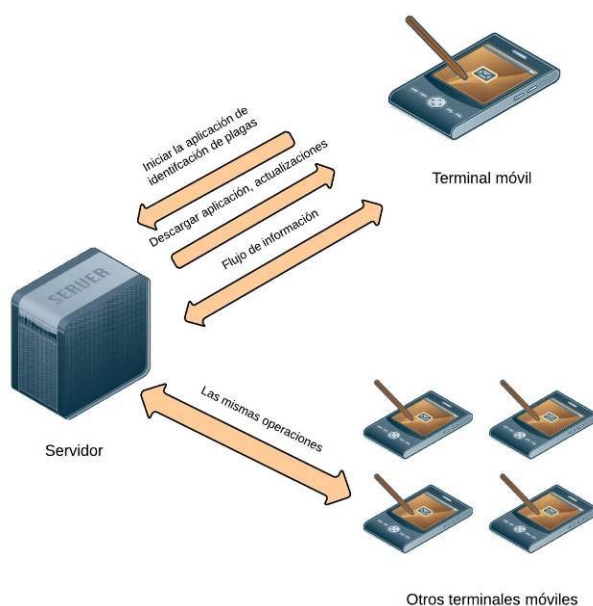


Simultáneamente se realizó un estudio de mercado con el fin de conocer el posible grado de acogida de los clientes potenciales. En él se observó que los agricultores no permanecen ajenos a las novedades informáticas, ya que de acuerdo a las encuestas sobre equipamiento y uso de las TIC en los hogares, realizadas por el INE, se obtuvo que el 93,8% de la población rural -residente en núcleos de población de menos de 10.000 habitantes- tiene un teléfono móvil, y emplean internet con un fin productivo. En *Google estadísticas* se aprecia un patrón de interés suscitado entre los internautas y con progresivo crecimiento en los últimos años en cuanto a buscar información sobre las plagas. Sin embargo el mercado de aplicaciones agronómicas para la telefonía móvil es relativamente nuevo y está en fase de expansión. Aplicaciones agrarias aún son escasas, excluidas las que informan sobre el tiempo meteorológico cuya implantación es máxima. Se revisaron treinta y tres *apps* del sistema operativo Android y otras veintiocho de iOS. Cabe destacar que tan solo diez *apps* de Android se centran en plagas, entre otras *Gipcitricos* IVIA, *Diagnoplant Biocontrôle* del INRA, *Bayer Pest Spotter* o *Schädlingsbestimmung*. La mayoría describe las plagas y aporta información acerca de cómo realizar el control, otras como NPIPM Guide emplea una clave para identificarlas.

## DESARROLLO DEL PROYECTO

El sistema está compuesto por tres entidades –servidor, base de datos y terminal móvil– cuyas comunicaciones se realizan según el protocolo OTA (*over-the-air*) empleado en telefonía móvil (Imagen 1).

**Imagen 1. Arquitectura de la plataforma. Fuente: Elaboración propia.**



La *app* se presenta como una clave dicotómica, cuya temática está centrada en la identificación de plagas en el cultivo del tomate, ya sea de invernadero o al aire libre, encuadradas en la geografía española. El usuario tras haber visualizado un artrópodo en su cultivo, posible plaga, toma una fotografía lo más nítida que pueda ayudado por las opciones de la cámara del móvil o tableta, así como de una lente macro que permite fotografiar elementos de reducido tamaño. Una vez esto, al abrir la *app* y superar la página de inicio, le aparecerá una pantalla que consta de los siguientes elementos: Dos preguntas (Imagen 2A), junto a unos dibujos lineales o fotografías relacionadas con las características o síntomas que hacen alusión a la pregunta, dos botones “seleccionar” y un icono “atrás” en la parte inferior para poder regresar a la pantalla inmediatamente anterior. En todo momento estará la imagen que ha fotografiado en la parte superior para

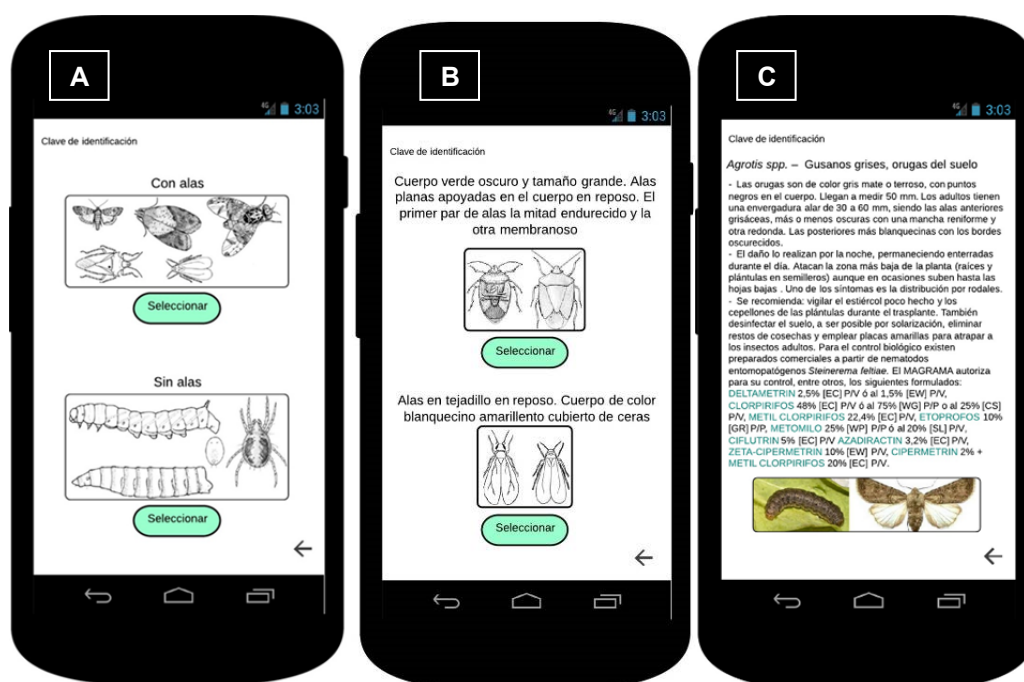


recordar qué artrópodo es y ayudarlo así a la identificación. Se trata de una clave dicotómica, ya que el usuario debe elegir, en función de lo detectado, por una de las dos opciones. Según la elección aparecerá una nueva pantalla (Imagen 2B) con más información (con el mismo diseño y dinámica a la que acaba de pasar) para escoger de nuevo; de ese modo se va cercando la posible plaga de acuerdo a lo seleccionado. Una vez supere la clave, accederá a una nueva pantalla (Imagen 2C) en la que se le explica las generalidades del artrópodo, los daños que causa, y las recomendaciones y métodos que puede seguir para controlar los niveles, e incluso intentar evitar infestaciones futuras. Adicionalmente, se puede llegar al mismo resultado al acceder directamente a través de un glosario de todas las plagas del cultivo. Junto a esto se busca que la aplicación archive la fotografía georreferenciada en una carpeta personalizada para cada usuario y que va constituyendo una librería que se va enriqueciendo según aumenta el número de consultas. La georreferenciación de datos permite informar del movimiento o avance de plagas y enfermedades, pudiendo proporcionar avisos anticipadamente.

El servidor: Es un programa informático escrito en Java que escucha en un puerto, cuando un usuario de la *app* quiere realizar una consulta a la página web, la aplicación se conecta al servidor. Cuenta además con una base de datos dinámica donde se registra a los usuarios. Asimismo, la información almacenada se modifica con el tiempo, permitiendo de ese modo la edición de datos, la actualización, pudiendo así variar los tratamientos que dejen de estar autorizados por el MAGRAMA.

En la página web se pueden leer las noticias sobre los niveles de alerta de las plagas, novedades que el Ministerio, u otras instituciones relacionadas con este campo, publiquen. También permite la descarga de la aplicación móvil, así como de las futuras *apps*, y acceder al manual de usuario y técnico.

**Imagen 2. Interfaz Gráfica de Usuario. Fuente: Elaboración propia.**



### VERIFICACIÓN DEL PROTOTIPO

El prototipo de la aplicación fue probado con diecisiete personas con distinto nivel de formación y edad con el fin de ver el grado de éxito y satisfacción que mostraban al utilizarlo, así como, comprobar que cualquiera, con independencia de su formación pero interesado, podría utilizarla con facilidad. Además se buscó maximizar la información obtenida sobre el consumidor por euro gastado de desarrollo, y tener un circuito de



retroalimentación para mejorarla. A cada uno de los que probaron el prototipo se les facilitó cuatro fotografías de distintas plagas que recoge la aplicación y se les pidió que utilizando la clave dicotómica proporcionaran el nombre de dichos artrópodos. El porcentaje de acierto medio fue del 82,3%, si bien en aquellos vinculados al mundo agrario fue del 91,7%. La mayor dificultad se debió a las imágenes elegidas, ya que normalmente el usuario presta más atención a la imagen que al propio contenido de la pregunta. Esto ha llevado que para la *app* se utilicen dibujos lineales en blanco y negro a la hora de hacer referencia a características morfológicas de la plaga.

### VIABILIDAD ECONÓMICA DEL PROYECTO

En la tabla 1 se muestra un resumen de los datos económicos manejados en este proyecto para un escenario pesimista, esto es, 11.060 descargas en total tras 5 años en el mercado –no distribuidas homogéneamente–, con un ingreso de 3,99 €, que engloba la publicidad asociada (2 €) y de descarga por cliente (1,99 €).

**Tabla 1. Resumen financiero del proyecto para un escenario pesimista. Fuente: Elaboración propia.**

| Concepto   | Unidades  | Cantidad |
|--|-----------|----------|
| Inversión ( <i>app</i> + página web)                       | euros     | 8500,00  |
| Pagos  |           |          |
| Cuota fijada por Google Play                               | euros/mes | 100,00   |
| Servicio técnico de la aplicación                          | euros/mes | 100,00   |
| Compra y mantenimiento del dominio en internet para la web | euros/año | 32,00    |
| Mantenimiento de la página web                             | euros/mes | 90,00    |
| Total (por año)  | euros/año | 3512,00  |
| VAN  | euros     | 17470,00 |
| TIR  | %         | 38,60    |

El tipo de actualización considerada es del 2,75% (Interés de la subasta del 22/05/2014 de los Bonos del Estado a cinco años).

### CONCLUSIONES

Una herramienta de estas características ayuda a ahorrar tiempo y dinero, ya que permite incrementar el rendimiento del cultivo si el agricultor actúa de forma precoz y adecuada. A gran escala contribuye a reducir la utilización de productos tóxicos que afectan al medio ambiente y/o a las personas, el ganado, otros insectos; y mitigar las pérdidas causadas por las plagas en los cultivos, una cuestión que ha de atajarse cuanto antes debido al gran ritmo de crecimiento de la población mundial, que puede suponer, un problema para la Seguridad Alimentaria de los próximos años. Habida cuenta de la falta de *apps* en el sector agronómico, y que más de quinientos millones de personas se comunican en español, sería tan sencillo como modificar ciertas plagas e introducir otras nuevas para que muchos países, con mayor peso económico en la agricultura que España, utilizaran esta aplicación u otras similares relacionadas con otros cultivos. Resultan, de este modo, muy poco probable los escenarios pesimistas para el éxito de este proyecto.

### AGRADECIMIENTOS

A las personas que me dieron la oportunidad de aprender de la experiencia y colaboraron en el proyecto.

### BIBLIOGRAFÍA

- FAO 2014. FAOSTAT. Agriculture. [En línea] <http://faostat.fao.org/> (Fecha de consulta: 1/04/2014).
- Google estadísticas. [En línea] <http://www.google.es/trends/explore#q=ara%C3%B1a%20roja> (Fecha de consulta: 13/05/2014).
- Oerke, E.-C. 2006. Crop losses to pests. The Journal of Agricultural Science, 144, pp 31-43.
- MAGRAMA 2014. Anuario de Estadística Avance 2013. [En línea] [http://www.magrama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2013-Avance/AE\\_2013\\_Avance.pdf](http://www.magrama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2013-Avance/AE_2013_Avance.pdf) (Fecha de consulta: 13/05/2014).





## JASMONIC ACID SIGNALING IS LINKED TO AUXIN HOMEOSTASIS THROUGH THE MODULATION OF *YUCCA 8* AND *YUCCA 9* EXPRESSION

Pérez-Alonso, Marta-Marina<sup>1</sup>; Hentrich, Mathias<sup>2</sup>

Tutor: Pollmann, Stephan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CBGP .Universidad Politécnica de Madrid <sup>2</sup>Department of Plant Physiology, Ruhr-University Bochum.  
Universidad Politécnica de Madrid.

*martamarina.perez@upm.es, Stephan.Pollmann@upm.es*

### ABSTRACT

Auxin is a plant hormone associated with the regulation of different plant process, ranging from cell division and elongation, differentiation, tropisms, apical dominance, senescence, leaf and fruit abscission, to flowering. However, although auxin biology is one of the classical fields of plant research, the biosynthesis of indole-3-acetic acid (IAA), its spatio-temporal regulation and the crosstalk with other hormones remain unknown. Current studies are beginning to shed light on the importance of cooperation and crosstalk between the various hormones. Our work highlights that oxylipins contribute to the regulation of Arabidopsis *YUC8* and *YUC9* gene expression. Similar to previously characterized YUC family members, we identify both enzymes as involved in local auxin biosynthesis, demonstrated by altered auxin contents and auxin-dependent phenotypes displayed by loss- and gain-of-function mutants. In addition, overexpression of *YUC8* and *YUC9* led to strong lignification of plant aerial tissue. Overall, our results provide unequivocal evidence for a molecular mechanism that links jasmonate signalling with auxin homeostasis and plant secondary growth.

**Palabras clave:** *YUCCA*, *oxylipins*, *crosstalk*.

### INTRODUCTION

Indole-3-acetic acid (IAA), the main naturally occurring auxin in plants, is an essential plant hormone that has been associated with the regulation of many aspects of plant development and growth, including cell division and elongation, cell differentiation, tropisms, apical dominance, senescence, abscission, and flowering (Hentrich *et al.*, 2013b; Woodward & Bartel, 2005). However, although auxin biology is one of the oldest fields of plant physiology, certain aspects of its biosynthesis, regulation and interactions remain unknown. Actually, although multiple pathways are proposed for auxin biosynthesis, *i.e* several tryptophan-dependent routes and a tryptophan-independent pathways, many previous genetic and biochemical studies reveal that the indole-3-pyruvic acid (IPA) pathway is the main source IAA in plants. This pathway involves the action of two classes of enzymes, tryptophan-pyruvate aminotransferases (TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS 1 (TAA1)/TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE RELATED (TAR)) and flavin monooxygenases (*YUCCA*). Both enzyme classes appear to be encoded by small gene families in Arabidopsis consisting of 5 and 11 members, respectively (Cheng *et al.*, 2007; Mano & Nemoto, 2012; Normanly *et al.*, 1995; Zhao, 2010). Nevertheless the molecular mechanisms which control how *YUCCA* gene expression is regulated and its physiological role, are still under scrutiny.

Recent studies results provid evidence for the induction of two *YUCCA* genes, *YUC8* and *YUC9*, after wounding (Mueller *et al.*, 2008; Pauwels *et al.*, 2008). The work presented here demonstrates that both genes participate in methyl jasmonate (MeJA) induced auxin synthesis. Moreover, we also reveal a role of these two *YUCCA* genes, *YUC8* and *YUC9*, in auxin homeostasis associated with changes in IAA levels.



## MATERIALS AND METHODS

**Plant Materials:** Seeds from wild-type Columbia (Col-0) ecotype of *Arabidopsis thaliana*, constitutive overexpression mutant lines 35S::YUC8ox and 35S::YUC9ox (YUC8ox and YUC9ox) (Hentrich *et al.*, 2013), *coi1* (Feys *et al.*, 1994), and *yuc8* and *yuc9* loss of function mutants (Tao *et al.*, 2008), were germinated on solidified half-strength MS medium, supplemented with 1% sucrose, under control conditions (22°C, 16 h light/8 h dark). After 14 days seedlings were transferred to vermiculite and grown under the same condition described above.

**Oxylipin treatment:** Seven day-old seedlings were transferred to either 50µM OPDA, 50µM MeJA, or 10µM coronatine (in liquid MS media containing 0.5%MeOH) or a control solution (liquid MS media containing 0.5%MeOH). For long-term treatments (7d), seedlings were grown on MS media (1%sucrose) containing 20µM MeJA or normal MS media (1%sucrose) in case of control plants.

**Expression analysis by qRT-PCR:** RNA was isolated from ten-day-old seedlings (100mg) of WT (Col-0) and YUC8ox and YUC9ox using TRIzol reagent (Invitrogen). First-strand cDNAs were synthesized from 2µg of total RNA according to the manufacturer's instructions using Oligo dT<sub>18</sub>-primer and M-ML RT (Promega). Quantitative RT-PCR was carried out assessing three biological replicates, each run in triplicates on a LightCycler480 (Roche). Specific primer pairs for YUC8 (At4g28720) and YUC9 (At1g04180) were designed. APT1 (At1g2750) and UBQ10 (At4g05320) were selected as reference genes for data normalization. The relative gene expression levels were calculated by the comparative 2<sup>-ΔΔT</sup> method (Livak & Schmittgen, 2001).

**Auxin quantification:** Approximately 100 mg tissue was frozen in liquid N<sub>2</sub>. IAA was quantified on a Varian Saturn 2000 GC-MS/MS system as previously described (Pollmann *et al.*, 2009).

**Histochemical Analysis:** Secondary cell wall elements were visualized in the adult inflorescence stem of Col-0, YUC8ox and YUC9ox. After tissue fixation in 4% formaldehyde, 100 µm stem cross sections were obtained using a Vibratome 1000 plus (Technical Products International). Next, 0.02% Toluidine Blue O and 3% phloroglucinol stains were carried out according to Mitra and Loqué (2014). After staining, samples were analysed by bright field microscopy using a Leica M10F microscope. Images were captured using a Leica DFC 420 camera.

**Statistics:** Data were analysed using either Student's *t*-test or ANOVA analysis using Statgraphics Software.

## RESULTS AND DISCUSSION

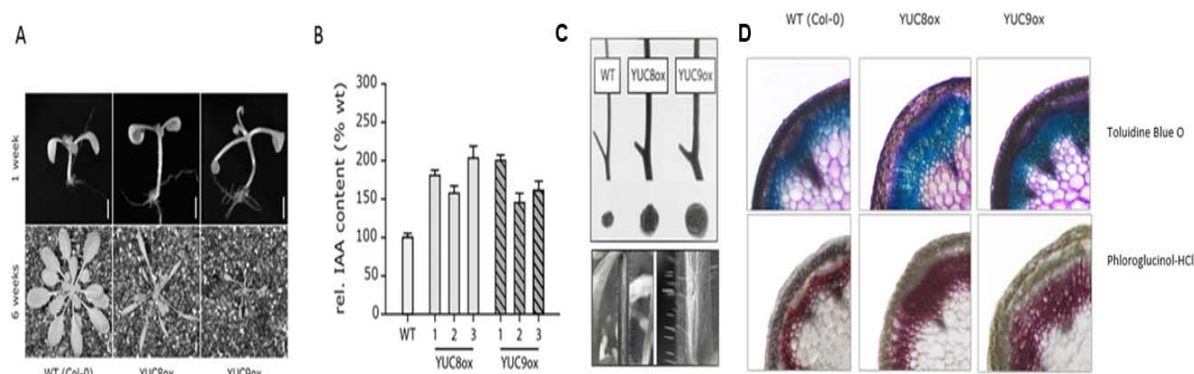
YUC8 and YUC9 genes participate in auxin biosynthesis *in planta*: First step, independent 35S::YUC8 and 35S::YUC9 overexpression lines (YUC8ox and YUC9ox), which constitutively express both enzymes, were used to test the contribution of YUC8 and YUC9 to auxin production *in vivo*. Consistent with other auxin overproducing mutants, YUC8ox and YUC9ox are phenotypically characterized mainly by elongated hypocotyls, epinastic cotyledons, reduced primary root lengths, and narrow elongated leaf blades and petioles (Figure 1.A). Furthermore, endogenous auxin levels quantified by gas chromatography-mass spectrometry showed an increment of 1.5- to 2-fold in YUC8ox and YUC9ox in comparison to the wild type (Figure 1.B) In addition to the primary phenotypic



analysis we observed that some of the overexpression lines displayed an abnormal secondary growth of the stem; indeed, in some cases the secondary growth was so strong that the stem was no longer able to follow the growth and cracked open from the bottom to the top (Figure 1C). Histochemical analyses staining adult inflorescence stem sections of WT (Col-0), YUC8ox and YUC9ox plants either with Toluidine Blue O or Phloroglucinol-HCl, revealed a strong lignification of the YUC8ox and YUC9ox plants as well as a drastic cell expansion and division (Figure 1D) likely derived from the overproduction of indole-3-acetic acid mediated by elevated YUC8 and YUC9 contents.

**Figure 1. Analysis of *YUC8* and *YUC9* gain of function lines.**

**(A) Phenotypes of *YUC8ox*, *YUC9ox*, and wild-type plants [Scale bars, 1 mm on the one week seedling, and 5 mm on the six weeks plants are shown]. (B) GC-MS analysis of the IAA level in three independent lines of *YUC8ox* and *YUC9ox* were analyzed and compared to wt. Means are given with their SE ( $n = 6$ ). (C) Stem cross sections of *YUC8ox* and *YUC9ox* in comparison with WT (upper image). Stems of 10- to 12-week-old *YUC8ox* and *YUC9ox* lines showing increased radial growth and cracks open (lower imagen) (D) Histochemical analysis of lignin in 100  $\mu$ m stem cross sections. WT (Col-0), *YUC8ox* and *YUC9ox* stained either with Toluidine Blue O or Phloroglucinol-HCl.**



Oxylipins have differential impact on *YUC8* and *YUC9* gene expression: Oxylipins, such as jasmonates and their precursor 12-oxo-phytodienoic acid (OPDA), play a prevalent role in plant defence, i.e. response to pathogen attack and herbivores (Studham & MacIntosh, 2012). Recent studies have reported a positive impact of oxylipin treatment in auxin production (Dombrecht *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2009). Taking this fact into account, we analysed the transcriptional regulation of *YUC8* and *YUC9* genes by qRT-PCR following the application of oxylipins: MeJA, OPDA, or coronatine respectively, in Col-0 plants. The results indicate an unexpected transient down-regulation of *YUC8* (Figure 2A). In contrast we observed an increased abundance of *YUC9* transcripts over the treatment period (Figure 2A). To further examine the possible interaction between *YUC8* and *YUC9*, we analysed their expression in the corresponding *yuc8* and *yuc9* loss-of-function mutants after 50  $\mu$ M MeJA treatment. The higher transcript levels after short-term MeJA treatment (Figure 2B) revealed that both *YUC* genes complement functionally, as well as compensate for a loss of function of the other.

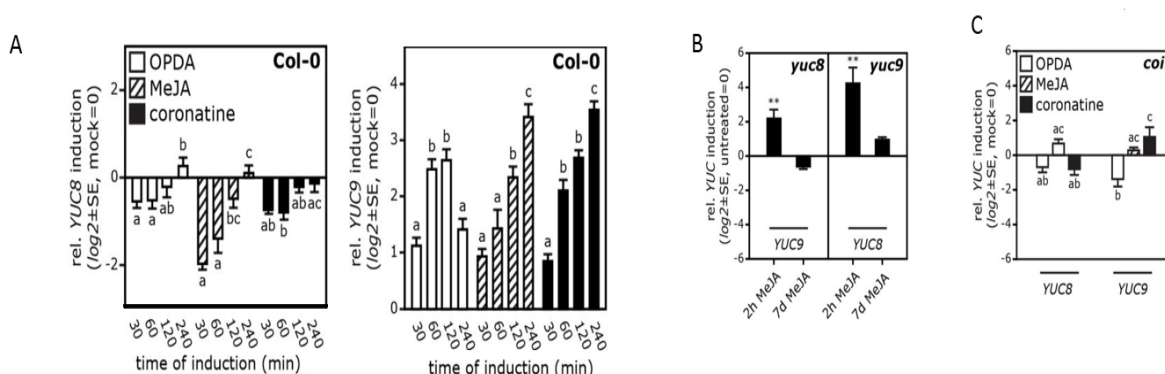
On the other hand, we studied if the coronatine-insensitive protein (COI1) a critical component of the jasmonate reception (Yan *et al.*, 2013), is involved in the oxylipin-dependent *YUC8/9* expression. To carry out this experiment we examined *YUC8* and *YUC9* expression levels in the *coi1* knockout mutant background after various oxylipin treatments. The qRT-PCR showed the transcriptional response almost suppressed,



suggesting that oxylipin-mediated regulation of *YUC8* and *YUC9* transcription proceed via COI1-dependent pathway (Figure 2C).

### Figura 2. Oxylipin impact on the transcriptional response of *YUC8ox* and *YUC9ox*.

(A) Quantitative RT-PCR for *YUC8* and *YUC9* genes in WT (Col-0) after different durations of induction with oxylipin: OPDA, MeJA and coronatine. (B) *YUC8* and *YUC9* transcript levels in the *yuc8* and *yuc9* knockout mutant background after short-term (2h) and long-term (7d) MeJA treatment. (C) *YUC8* and *YUC9* expression in the *coi1* knockout mutant background after various oxylipin treatments: OPDA, MeJA and coronatine. Relative expression levels of the genes are normalized to levels in control samples bars denote the standard error. [Student's t test; \*\* $P < 0.01$ ]. Mean values within a graph are significantly different [ $P < 0.05$ ] where superscript letters differ.





## DEFORESTACIÓN EN BRASIL: VULNERABILIDAD Y AMENAZAS EN TRES ECO-REGIONES (CERRADO, MATA ATLÁNTICA Y AMAZONIA)

Bentivenha, Rafael Bestana<sup>1, 4</sup>; Santos, Nicolas Cristovão dos<sup>3, 4</sup>; Campos, Wendell Figueiredo<sup>1, 4</sup>

Tutor: Iglesias, Ana<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos

<sup>3</sup>Departamento Economía Agraria, Estadística y Gestión de Empresas. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

<sup>4</sup>Becario del CNPq/Brasil.

bentivenha@gmail.com; nicolas.cristovao@hotmail.com; wf.c@hotmail.com.

### RESUMEN

La deforestación es una preocupación grave en todo el mundo y los bosques están sometidos a importantes amenazas sociales y medioambientales. Los bosques proporcionan innumerables servicios para el hombre y la naturaleza, mantienen el equilibrio hídrico de la cuenca, son imprescindibles para la distribución estacional de la lluvia, protegen los suelos contra la erosión, mantienen la biodiversidad, aportan alimentos para la fauna y mantienen una gran variedad de plantas medicinales, entre otros. Los bosques en Brasil mantienen un frágil equilibrio entre sus servicios sociales y medioambientales y la caracterización de su vulnerabilidad es un tema muy complejo. Este trabajo contribuye a estimar las principales causas de vulnerabilidad a la deforestación en tres eco-regiones de Brasil: La Amazonía, El Cerrado y La Mata Atlántica. Primero se propone una metodología para estimar un índice de vulnerabilidad que integra aspectos medioambientales, sociales y económicos; el índice permite comparar las tres eco-regiones y los distintos componentes de vulnerabilidad. Por último, el estudio analiza, medidas específicas puesta por el gobierno para disminuir la deforestación de los biomas brasileños.

**Palabras clave:** bosques; Brasil; riesgos; biodiversidad

### INTRODUCCIÓN

Brasil es el quinto país más grande del mundo, con una superficie aproximada de 8.515.767 km<sup>2</sup>, cerca de 68 millones hectáreas de área cultivada.

El desarrollo de la Región Amazónica y la expansión de las actividades productivas generan deforestación de sus bosques. El trabajo de Margulis (2000) señala que no hay una causa principal responsable de la deforestación en la Amazonía, que este es el resultado de una sofisticada combinación de muchas variables y factores. Mientras que otros estudios citan razones específicas, tales como la rentabilidad económica de la ganadería (Margulis, 2003), la pavimentación y la implantación de las carreteras que facilita el acceso a las zonas fronterizas (Laurance et al, 2001. Nepstad et al., 2000; Weinhold; Reis, 2003) y el avance de la agricultura para satisfacer los mercados internacionales (Fearnside, 2001). Cabe señalar que cada una de ellas están conectadas y son causas directas de la deforestación.

El Cerrado es el segundo bioma de mayor importancia, sólo superada por el Amazonas, con una superficie de 204,7 millones de hectáreas. La mayor parte de la vegetación natural se ha perdido debido a las políticas de expansión de la agricultura desde la década de 1970, que fue posible con el aumento de la población y la infraestructura que avanzó en el Cerrado (Miziara y Ferreira, 2008). Mientras que Sano et al. (2007) apunta las nuevas áreas de pastoreo, de urbanización y de agricultura como los principales





responsables de la destrucción de aproximadamente 40% de las áreas del bioma Cerrado en los últimos treinta años.

La Foresta Atlántica se caracteriza por un gran número de especies, de las cuales muchas son endémicas. Se estima que esta formación forestal posee 1%-8% de todas las especies mundiales (Galindo-Leal y Câmara, 2003). Sin embargo, se encuentra muy amenazada y es probablemente lo que sufre más riesgo de desaparecer. Eso porque, según la Fundación SOS Mata Atlántica (2013), la Foresta Atlántica en 28 años perdió 1.850.896 ha. Sus principales amenazas son el crecimiento urbano, la agricultura y agropecuaria, la explotación de maderas y especies vegetales y la polución. La deforestación de la Foresta Atlántica está relacionada con ciclos económicos en Brasil, como la explotación del Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata Lam.*), la expansión de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) y la plantación de forestas artificiales con especies del género *Eucalyptus* (Fundação SOS Mata Atlântica, 2014). Actualmente la legislación forestal busca impedir que este importante eco región desaparezca. Con la tentativa de disminuir la deforestación y ahorrar una parte que queda en la Foresta Atlántica, fue creado en 1986, la Fundación SOS Mata Atlántica. Esta organización tiene el deber de advertir, informar, educar, motivar y hacer que la gente sea capaz de practicar la ciudadanía. Desde su creación se desarrollaron muchos proyectos, como: 1990 publicación del primero Atlas de la Foresta Atlántica, Edición del Decreto Federal 99.547, que veta lo corte y la explotación de la vegetación de la Foresta Atlántica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El objetivo es diseñar un índice de vulnerabilidad a la deforestación de las tres eco-regiones, que incorpore los aspectos sociales, económicos y medioambientales que influyen en la deforestación. Este índice se aplica en las tres eco-regiones seleccionadas de Brasil.

**Figura 1: mapa de Brasil con las tres ecorregiones y los estados analizados**





El índice se construye en tres pasos:

**Selección de las variables y relevancia en la vulnerabilidad a la deforestación.** Se seleccionan variables que se puedan cuantificar y que aparezcan en bases de datos públicas y científicas, y que representen la relación entre deforestación y la interacción humana. Estas variables incluyen: (a) la tasa de natalidad; (b) tasa de escolarización; (c) PIB / per cápita; (d) la tasa de deforestación; (e) la tasa de crecimiento de la ganadería; y (f) la tasa de crecimiento de la agricultura. Las variables (a), (b) y (c) son representativas de la interferencia humana en y del crecimiento de la población en los niveles de conciencia ambiental para la preservación de bosques. La variable (d) expresa la tasa de deforestación real. Mientras que las variables (e) y (f) expresan la presión del sector agrícola y ganadero sobre los bosques.

**Estandarización de las variables.** Las variables se miden en porcentajes, superficie (km<sup>2</sup>), capital (R\$/año), entre otras unidades. Con el fin de calcular un índice que integre las variables es necesario estandarizar las variables para que tengan una escala de medición común. Las variables estandarizadas ( $Z_i$ ) se calculan a partir de los valores máximo ( $X_{max}$ ) y mínimo ( $X_{min}$ ) de cada variable ( $X_i$ ) con las siguientes expresiones para variables que influyen positivamente o negativamente en la vulnerabilidad:

$$Z_i = 1 - \left( \frac{X_i - X_{min}}{X_{max} - X_{min}} \right) \quad Z_i = \frac{X_i - X_{min}}{X_{max} - X_{min}}$$

y por tanto las variables estandarizadas se miden entre los valores de cero y uno.

**Ponderación de las variables.** Finalmente el índice de vulnerabilidad se calcula integrando todas las variables y asignando a cada una ponderación, según la siguiente expresión:

$$VI_i = \sum_{i=1}^n W_i X_i$$

donde,  $W_i$  es el peso de cada variable  $X_i$  en el índice total  $VI_i$ .

Como resultado se obtiene el índice  $VI_i$  que es mayor cuanto más vulnerable sea el sistema.

## RESULTADOS

**Estimación de la vulnerabilidad a la deforestación en las tres eco-regiones.**

Foresta Atlántica es el bosque con el índice de vulnerabilidad mas alta entre los tres estudios (tabla 1). Eso porque, 72 % de la población con mas de 145 millones de habitantes vive en la Foresta Atlántica. Además la extracción ilegal de madera, ciclos económicos de la caña de azúcar, café y oro, la industrialización, la expansión urbana no planificada y las quemadas son mas problemas que contribuyen para el riesgo de la no existencia de la foresta.

**Tabla 1. Índice de vulnerabilidad estimado para tres eco-regiones de Brasil**

| Cerrado (Goiás) | Mata Atlántica (Paraná) | Amazonia (Amazonas) |
|-----------------|-------------------------|---------------------|
| 0,43            | 0,64                    | 0,51                |

*Algunas acciones para disminuir la vulnerabilidad.*



La lucha contra deforestación de los biomas brasileños es uno de los principales objetivos del gobierno. El gobierno ha puesto en planes medidas específicas para la protección de los dos principales biomas brasileño Amazonia y Cerrado, con el incentivo para actividades sostenibles. El “Plano de Ação para a Prevenção e Controle do Desmatamento na Amazônia 2004-2015” (PPCDAM) es un sistema de monitoreo satelital, que subsidia las operaciones de vigilancia en el Amazonas. El Instituto Nacional de Pesquisas Espaciales (INPE) utiliza varios mecanismos, incluyendo el PRODES (programa de cálculo de la deforestación de la Amazonia), uno de los más avanzados en el mundo para la identificación y cuantificación de los procesos de deforestación en las zonas. Para Cerrado el gobierno creó un sistema similar con Amazonia, llamado “Plano de Ação para Prevenção e Controle do Desmatamento e das Queimadas no Cerrado” (PPCerrado) estima 151 acciones para reducir la pérdida de la cubierta vegetal y crear alternativas de protección y uso sostenible de los recursos naturales del bioma.

## CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en el cálculo del índice de vulnerabilidad, muestra que la eco-región Mata Atlántica en la provincia de Paraná es el más vulnerable a la deforestación entre las tres analizadas. Seguido por la eco-región Amazonia en la provincia Amazonas y la eco-región Cerrado en la provincia de Goiás.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a el CNPq – Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico por la beca de Grado a todos los alumnos. Este trabajo se ha realizado en la UPM durante el curso de Gestión de Riesgo con la Profesora Ana Iglesias.

## BIBLIOGRAFÍA

- C. Galindo-Leal, I.G., 2003. The Atlantic Forest of South America: Biodiversity Status, Threats and Outlook Island Press, Washington
- Fundação SOS Mata Atlântica., 2013. Recuperado en 18 de 03 de 2015, disponible en <http://www.sosma.org.br/projeto/atlas-da-mata-atlantica/dados-mais-recentes/>
- Fundação SOS Mata Atlântica., 2014. Recuperado en 19 de 03 de 2015, disponible en <http://www.sosma.org.br/nossa-causa/a-mata-atlantica/>
- Sano, E. E.; Rosa, R.; Brito, J. L. S.; Ferreira, L. G., 2007. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados. Recuperado en 19 de 03 de 2015, disponible en [http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/2007/doc/doc\\_190.pdf](http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/2007/doc/doc_190.pdf)
- Miziara, F.; Ferreira, N. C., 2008. Goiânia: UFG. Recuperado en 19 de 03 de 2015, disponible en [http://www.dcs.ufla.br/site/\\_adm/upload/file/slides/matdispo/geraldo\\_cesar/a%20encruzilhada%20socioambiental%20livro%20goias.pdf](http://www.dcs.ufla.br/site/_adm/upload/file/slides/matdispo/geraldo_cesar/a%20encruzilhada%20socioambiental%20livro%20goias.pdf)
- Fearnside, P. M. 2002. Springer-Verlag New York Inc. Environ Manage. v. 30, n. 6, 735-747.
- Laurance, W.F.; Cochrane, M.A; Bergen, S; Fearnside P.M; Delamônica, P; Barber, C; D'Angelo S; Fernando's, T; 2001. Science. v. 291, p. 438-439.
- Weinhold, D.; Reis, E.; 2003. Recuperado en 19 de 03 de 2015, disponible en <http://personal.lse.ac.uk/weinhold/TransportCosts2.pdf>.
- Fearnside, P. M., 2001. Environmental Conservation. v. 28, n, 1, pp 23-38.
- Margulis, S., 2000. Recuperado en 19 de 03 de 2015, disponible en [http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/iv\\_en/mesa5/5.pdf](http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/iv_en/mesa5/5.pdf)
- Margulis, S., 2003. Brasília: Banco Mundial. Recuperado en 19 de 03 de 2015, disponible en <http://siteresources.worldbank.org/BRAZILINPOREXTN/Resources/3817166-1185895645304/4044168-1185895685298/010CausasDesmatamentoAmazoniaBrasileira>.





## EL CULTIVO DE LA STEVIA REVOLUCIONARÁ LA AGRICULTURA ANDALUZA

Benítez Villanueva, Gustavo

Tutor: Hernández Díaz-Ambrona, Carlos Gregorio

Dpto. de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

gustavo.bvillanueva@alumnos.upm.es

### RESUMEN

La demanda creciente de los edulcorantes como sustitutos del azúcar y de los productos acalóricos o con bajas calorías de los consumidores españoles (entre 2008 y 2012 la demanda de edulcorantes creció en España un 36,5%) ha sido la base para la realización de este trabajo. En él se ha estudiado el cultivo de *Stevia rebaudiana* Bertoni, una planta compuesta originaria de Paraguay de la que se obtiene un edulcorante natural y acalórico del mismo nombre, stevia. Se ha analizado la viabilidad del cultivo en el sur de España, concretamente en Andalucía, mediante el estudio y la clasificación de una colección de más de 50 suelos de esta región según su índice de viabilidad para el cultivo de stevia. De este modo, se ha podido señalar la aptitud de las distintas comarcas de Andalucía para el cultivo de esta especie. De acuerdo con los resultados obtenidos, un 32% de las comarcas son de buena aptitud, un 53% son de aptitud media y un 15% son de baja aptitud para este cultivo.

**Palabras clave:** Andalucía, edulcorante, suelo.

### INTRODUCCIÓN

Una alternativa al excesivo consumo de azúcar, que es perjudicial para la salud de millones de personas (Lustig et al., 2012), son los edulcorantes de origen natural, tales como el edulcorante stevia, que se obtiene a partir de una planta del mismo nombre. La stevia, *Stevia rebaudiana* Bertoni, es una planta de cultivo originaria de Paraguay que fue descrita por primera vez a principios del siglo XX por el suizo Moisés Santiago Bertoni, que pertenece al género *Stevia* y a la familia de las Asteráceas. Las hojas de la stevia tienen un alto contenido en glucósidos de steviol, que hacen que esta planta tenga un poder edulcorante de entre 30 y 320 veces superior al del azúcar (Brandle et al., 1998). Además, estos glucósidos son acalóricos y de origen natural. Por todo ello, actualmente la stevia es una alternativa en el mercado de los edulcorantes. *Stevia rebaudiana* ya se cultiva en España, en algunas localidades de Andalucía. Sin embargo, su producción es todavía muy limitada, ya que se trata de una especie de origen subtropical y las condiciones del clima mediterráneo pueden no ser óptimas para su cultivo. Teniendo en cuenta tanto las propiedades de la stevia como la caída de la producción de azúcares, hay en la actualidad un gran interés en aumentar la producción de stevia en España.

El objetivo del trabajo ha sido realizar un estudio de la viabilidad del cultivo de la stevia en el sur de España, determinando las características óptimas del cultivo de esta especie herbácea y las zonas más óptimas para cultivar esta especie en Andalucía.

### STEVIA: DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA Y SU CULTIVO

*Stevia rebaudiana* es una planta herbácea perenne de porte arbustivo (Larrañaga, 2011). Puede alcanzar hasta 90 cm de altura en su hábitat natural. La raíz es pivotante, fibrosa, filiforme, y no profundiza, distribuyéndose cerca de la superficie. Presenta tallo erecto, subleñoso y pubescente. Durante su desarrollo inicial el tallo no posee ramificaciones, ramificándose después del primer ciclo vegetativo y llegando a producir hasta 20 tallos al cabo de tres años. El género *Stevia* tiene hojas elípticas, ovales o lanceoladas, pubescentes y con márgenes dentados; presentan disposición opuesta en sus estados



juveniles, y alterna cuando las plantas llegan a su madurez fisiológica, previa a la floración (Shock, 1982).

**Figura 1. Planta, flores y fruto de *Stevia rebaudiana* (Carrascal, 2010; Jardín Botánico Mundani)**



### ZONIFICACIÓN AGROECOLÓGICA

Para determinar las zonas más aptas para el cultivo de la stevia desde el punto de vista edafoclimático, se ha tomado como base el Catálogo de Suelos de Andalucía (de la Rosa, 1984), que proporciona información sobre 57 suelos. Además, se han utilizado las Caracterizaciones Agroclimáticas de las ocho provincias de Andalucía (MAPA, 1989), de las que se han seleccionado las 81 estaciones meteorológicas con los datos históricos más completos de temperatura y precipitación. Se ha realizado un análisis del relieve, temperatura, precipitación y radiación de la Comunidad andaluza.

**Relieve:** La parte occidental de Andalucía se caracteriza por una orografía poco accidentada y de leve altitud con predominio del valle del Guadalquivir, debido a la presencia de los ríos Guadalquivir y Guadiana y, en menor medida, los ríos Odiel, Tinto y Guadalete. En contraposición, en la parte oriental abundan las zonas montañosas y los altiplanos. Esta parte oriental se puede subdividir en la zona que ocupa el conjunto montañoso de Sierra Morena y en los Sistemas Béticos. En las zonas costeras abundan llanuras litorales bañadas por el mar Mediterráneo y el océano Atlántico.

**Temperatura:** Las temperaturas más altas se alcanzan en las zonas de menor altitud, es decir, en el valle del Guadalquivir y en las llanuras litorales. Las temperaturas de la región andaluza son adecuadas para el cultivo de la stevia, a excepción del área que ocupan los Sistemas Béticos, donde encontramos temperaturas menores y no adecuadas para este cultivo.

**Precipitación:** En Andalucía, las cuatro zonas con mayor precipitación son el norte de Huelva, la zona de unión entre Cádiz y Málaga, la zona de Algeciras (Cádiz) y el este de Jaén. Solo estas cuatro zonas alcanzan una pluviometría mayor de 1.400 mm, pero sus condiciones de temperatura no son óptimas para el cultivo de la stevia. Dado que este cultivo necesita disponer de entre 1.400 mm y 1.800 mm de agua durante el año repartidos de forma uniforme, será necesario disponer de sistemas de riego.

**Radiación solar:** Otra variable a considerar a la hora de decidir dónde cultivar stevia es la radiación solar o insolación del lugar, pues esta planta requiere una alta exposición solar.



El valle del Guadalquivir, el campo de Níjar, la Hoya de Baza y la Vega de Granada tienen radiación solar media de  $18 \text{ MJ/día} \cdot \text{m}^2$ , siendo así zonas adecuadas para el cultivo de esta especie.

## EVALUACIÓN DE LA APTITUD DE LOS SUELOS PARA EL CULTIVO DE LA STEVIA

Con los registros de los 57 suelos del Catálogo (de la Rosa, 1984) se ha realizado una clasificación de éstos según un índice de viabilidad que se calcula como media de un índice altitud, un índice de pH y un índice de uso. Cada uno de estos índices califican los suelos de 0 a 100, siendo 100 la mejor puntuación.

Índice de altitud (Índice 1): Desde el punto de vista biológico, la altitud incide sobre el crecimiento de esta planta, la longitud de los entrenudos, el tamaño de las hojas y los contenidos de steviósidos. El rango de altitud óptimo en el cual se adapta y desarrolla la stevia está entre los 0 m y los 600 m (Ramírez, 2011). Por esta razón, se han clasificado los suelos en tres categorías:

- |  |            |
|--|------------|
| • Suelos de menos de 600 m de altitud        | 100 puntos |
| • Suelos de entre 600 m y 1.000 m de altitud | 50 puntos  |
| • Suelos de más de 1.000 m de altitud        | 0 puntos   |

Índice de pH (Índice 2): Diferentes autores han especificado distintos pH óptimos para la stevia; para este índice se ha tomado el pH óptimo igual a 6,5, por estar dentro de los intervalos de pH recomendados para la stevia y por ser este valor el óptimo para la absorción de la mayor parte de los nutrientes del suelo. De este modo, se han clasificado los suelos en cuatro categorías:

- |   |            |
|---|------------|
| • Suelos con $6 \leq \text{pH} \leq 7$                | 100 puntos |
| • Suelos con $\text{pH} < 6$ ó $7 < \text{pH} \leq 8$ | 50 puntos  |
| • Suelos con $8 < \text{pH} \leq 8,5$                 | 25 puntos  |
| • Suelos con $\text{pH} > 8,5$                        | 0 puntos   |

Índice de uso del suelo (Índice 3): Según el uso de los suelos se puede conocer en qué medida se pueden adaptar al cultivo de la stevia. Esta clasificación se ha basado en la disponibilidad de sistemas de riego y presencia de cultivos, pues estos factores determinan la facilidad para cultivar stevia. Atendiendo a su uso, se han clasificado los suelos en cinco categorías:

- |  |            |
|--|------------|
| • Frutal riego, huerta riego, labor riego  | 100 puntos |
| • Pastos                                   | 75 puntos  |
| • Labor secano, olivar secano, viña secano | 50 puntos  |
| • Eucaliptos, monte bajo, pinar            | 25 puntos  |
| • Alcornocal, encinar                      | 0 puntos   |

Índice de viabilidad (Índice 4): Finalmente, se ha realizado la media aritmética de los tres índices para obtener el índice de viabilidad de cada suelo o índice 4. Este índice refleja cómo de conveniente es cada suelo para el cultivo de la stevia: un valor del índice igual o mayor a 75 puntos indica que el suelo será de buena aptitud, un valor igual o mayor a 50 y menor de 75 puntos indica que el suelo será de aptitud media y un valor menor de 50 puntos indica que el suelo será de baja aptitud.

Los resultados de este análisis muestran que prácticamente el 85% del suelo de Andalucía es viable para cultivar stevia (Figura 2), siendo a su vez el 40% del suelo viable de buena aptitud, es decir, con las mejores condiciones para el cultivo (altitud adecuada, pH en general cercano a 6,5 y un uso que facilita la adaptación a este nuevo cultivo) y con un menor coste; el 60% restante tiene una aptitud media. El 15% del suelo de Andalucía lo constituyen suelos de baja aptitud donde no es recomendable cultivar la stevia.



El mapa muestra la distribución geográfica de la aptitud agropecuaria en Colombia. Los departamentos de Boyacá, Cundinamarca y Quindío están en blanco, lo que indica que no se tienen datos para ellos. La mayoría de los departamentos tienen una aptitud media (amarillo), con algunas zonas de buena aptitud (verde) en el centro y sur, y algunas zonas de baja aptitud (rojo) en el nordeste y sur.

**LEYENDA (en blanco: sin datos):**

- Buena aptitud
- Aptitud media
- Baja aptitud

Las zonas óptimas de la Comunidad Autónoma de Andalucía para el cultivo de la stevia son las comarcas del valle del Guadalquivir y de las llanuras litorales. En esta Comunidad se necesita aportar riego para cubrir las necesidades hídricas de la planta en estas zonas que poseen las mejores características para el cultivo de la stevia. Estas características son: altitud menor de 600 m, pH entre 5,5 y 7,5, presencia de cultivos anuales y/o con sistemas de riego, alta exposición solar, temperaturas entre los 15 °C y 30 °C y humedad relativa elevada.

## BIBLIOGRAFÍA

- ## Sesión C3

## **SESIÓN C4**





## FERMENTACIÓN CECAL IN VITRO DE DIFERENTES SUSTRATOS EN EL CONEJO

Butí Sarabia, Mireia; Ocasio Vega, Cesar; Abad Guaman, Rodrigo

Tutores: Carro Travieso, María Dolores; García Alonso, Javier

Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

m.butí@alumnos.upm.es

### RESUMEN

El manejo de la nutrición es un punto fundamental para la prevención de enfermedades digestivas en el conejo, y para ello es necesario conocer los procesos que suceden en el sistema digestivo cuando los animales ingieren alimento. Sin embargo, los estudios *in vivo* son complejos y a menudo requieren el sacrificio de los animales experimentales. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar la fermentación cecal *in vitro* de distintos sustratos utilizando cecótrofos recién excretados como inóculo. Se incubaron cinco sustratos (glucosa, celobiosa, pectinas de remolacha, pulpa de remolacha y paja de cereal) con cecótrofos de 24 conejos y se midió la producción de gas a diferentes tiempos entre las 3 y 144 horas de incubación. La celobiosa fue el sustrato que produjo una mayor cantidad de gas (ml/g de sustrato), seguida de la glucosa, pectinas, pulpa de remolacha y paja. Se observó el mismo orden de los sustratos cuando se clasificaron según la máxima velocidad de producción de gas (ml/h). Los valores obtenidos son muy similares a los de otros estudios *in vitro* en los que se utilizó contenido cecal o cecótrofos recogidos del recto como inóculo. Por ello, realizar incubación *in vitro* con cecótrofos recién excretados es una técnica válida que permite evitar el sacrificio de los animales para recoger contenido cecal o cecótrofos del recto.

**Palabras clave:** fermentación cecal, hidratos de carbono, *in vitro*

### INTRODUCCION

El manejo de la nutrición se ha convertido en un punto fundamental en la prevención de enfermedades digestivas de los animales de granja debido a las continuas restricciones de la Unión Europea en el uso de antimicrobianos (Carabaño et al., 2005). Un correcto manejo de la nutrición requiere determinar de forma precisa el valor nutritivo de los alimentos, pero la determinación de la digestibilidad *in vivo* es un proceso costoso, que requiere numerosos materiales, disponer de animales experimentales y en algunos casos el sacrificio de los animales. Debido a estos problemas se han desarrollado *métodos in vitro* que intentan estimar el valor nutritivo de los alimentos. Una de las técnicas *in vitro* que pueden utilizarse consiste en la incubación de los alimentos con inóculos microbianos del tracto digestivo y la posterior medida del gas producido, debido a la relación existente entre la producción de gas *in vitro* y la cantidad de materia orgánica de sustrato fermentada.

La mayor parte de la fermentación microbiana en el conejo se produce en el ciego, debido a la abundante flora microbiana que existe en este tramo del tracto digestivo. El ciego del conejo puede llegar a representar el 40% del tracto digestivo (Jehl y Gidenne, 1996), aunque su volumen se ve modificado a lo largo del día dependiendo de la actividad cecotrófica del animal. Como consecuencia de la fermentación en el ciego se producen cantidades variables de ácidos grasos volátiles (AGV), que en parte son absorbidos y contribuyen a cubrir las necesidades nutritivas del animal y en parte son expulsados con los cecótrofos. En los conejos la fibra de la dieta tiene una gran importancia en la prevención de enfermedades digestivas, debido a su papel en el control de la microbiota intestinal a través de la regulación del tránsito digestivo y del crecimiento de las bacterias intestinales (Jehl y Gidenne, 1996; Trocino et al., 2013), por lo que es importante conocer su fermentación cecal. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar



las diferencias en la fermentación *in vitro* de diferentes hidratos de carbono cuando se utilizaron cecótrofos como inóculo para las incubaciones.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En las incubaciones *in vitro* se emplearon cinco sustratos: glucosa, celobiosa, pectinas de remolacha (Betapec<sup>®</sup>, fibra soluble), pulpa de remolacha (Fipec<sup>®</sup>; fibra insoluble fermentable) y paja de cereal (fibra insoluble poco fermentable). Estos sustratos se eligieron porque presentan diferente grado de solubilidad y fermentabilidad. Las incubaciones se realizaron en viales de vidrio de 115 ml de capacidad, en los que se pesaron 0.250 g de materia seca (MS) de los sustratos. En cada vial se agregaron 6,25 ml de buffer fosfato A (0,1 M; pH = 6), 2,5 ml de HCl (0,2 M) y 0,5 ml de solución de pepsina (25 mg de pepsina/ml HCl 0,2 M) y se incubaron a 40°C durante 1,5 h. Posteriormente, se añadieron 2,5 ml de buffer fosfato B (0,2 M; pH = 6,8), 1,25 ml de NaOH 0,6 M y 0,5 ml solución de pancreatina (100 mg de pancreatina/ml buffer fosfato B) y se incubaron a 40°C durante 3,5 h. Finalizado este proceso, el volumen completo (sin filtrar) se utilizó como sustrato para su fermentación *in vitro*. Este proceso de predigestión se realizó para simular la digestión enzimática de los sustratos previa a su fermentación cecal.

Como inóculo se utilizaron cecótrofos procedentes de 24 gazapos de 40 días de edad. A cada gazapo se le colocó un collar de plástico a las 8:00 h para recoger los cecótrofos producidos una vez excretados. Cada uno de los inóculos se mezcló con el medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970; sin tripticasa) en la proporción necesaria para aportar 250 mg de materia fresca de cecótrofos por vial. A continuación se dosificaron 25 ml de la mezcla en cada vial mediante una bomba peristáltica (Watson-Marlow 520UIP31, Ltd, Falmouth, UK). Seguidamente los viales se cerraron herméticamente con un tapón de caucho, se agitaron y se introdujeron rápidamente en un incubador a 39°C. El gas producido en cada vial se midió a las 3, 6, 9, 12, 19, 24, 30, 34, 48, 58, 72, 96, 120 y 144 horas de incubación mediante un transductor de presión y una jeringa calibrada, permitiendo la salida del gas tras cada medida. La producción de gas en cada vial se corrigió para el volumen de gas producido en el blanco correspondiente. La producción de gas acumulada a cada tiempo de medida se calculó como la suma del gas medido con el registrado en cada uno de los tiempos anteriores. Los datos se expresaron como ml de gas producido por g de MS de sustrato incubado y se ajustaron a un modelo logístico (Schofield et al., 1994).

Los parámetros de la cinética de producción de gas se analizaron mediante ANOVA, en el que el sustrato se consideró un efecto fijo y el inóculo (gazapo) un efecto aleatorio.

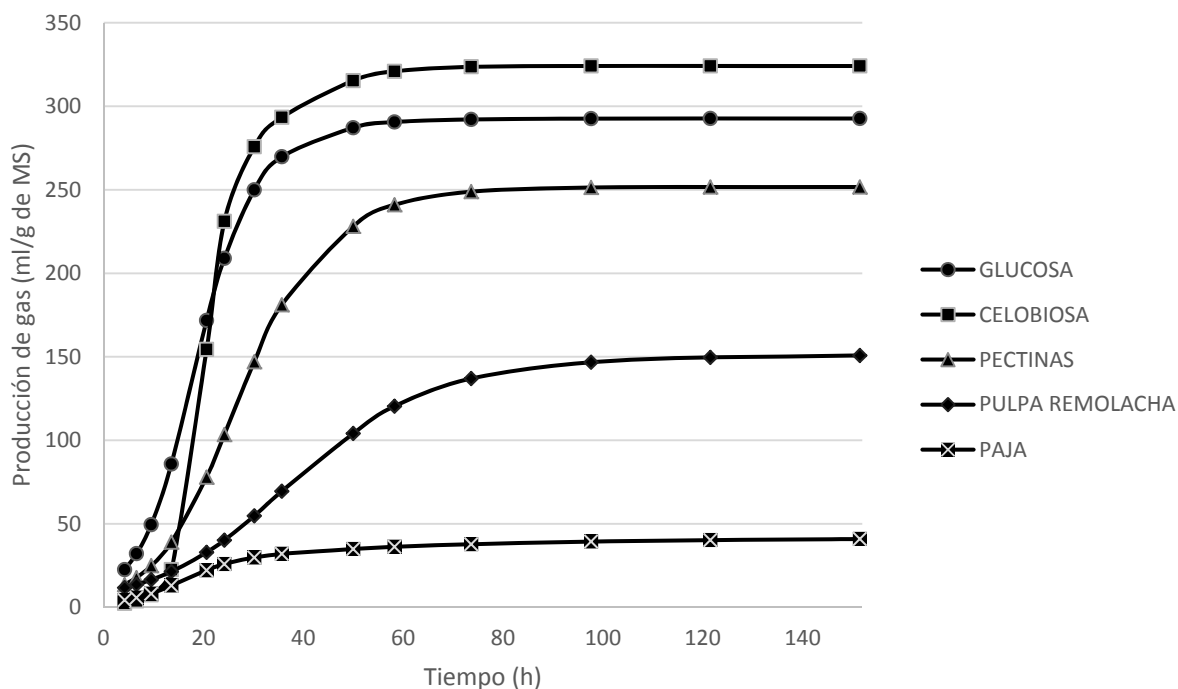
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestran las curvas de producción de gas para cada uno de los sustratos utilizados. El sustrato que mayor cantidad de gas produjo fue celobiosa, superando los 320 ml de gas por g de MS incubada, seguido de la glucosa que no alcanzó los 300 ml de gas por g de MS. Las pectinas produjeron menor cantidad de gas (250 ml/g de MS) posiblemente debido a la mayor complejidad estructural en comparación con la glucosa y la celobiosa, ya que presenta enlaces más complejos que deben romperse para liberar monosacáridos fermentables. La pulpa de remolacha y la paja fueron los sustratos que generaron una menor cantidad de gas, siendo la producción de gas de la paja aproximadamente un tercio de la de la pulpa de remolacha.





**Figura 1. Producción de gas acumulada para diferentes sustratos utilizando cecótrofos de conejos como inóculo (valores medios para 24 inóculos)**



En la Tabla 1 se muestran los parámetros de la cinética de producción de gas obtenidos para cada sustrato. Como puede observarse, existieron diferencias ( $P < 0,001$ ) entre sustratos en todos los parámetros analizados. En cuanto a la producción máxima de gas, tal y como se apreciaba en la Figura 1, presentan valores más altos los sustratos que tienen una estructura más sencilla, ya que son más fácilmente fermentables por las bacterias presentes en el ciego. La tasa fraccional de fermentación ( $k$ ), que representa el porcentaje fermentado por hora, fue similar ( $P > 0,05$ ) en la paja y en la glucosa. El tiempo transcurrido hasta que empieza la producción de gas ( $L$ ) fue más bajo ( $P < 0,05$ ) para la glucosa y la paja que para el resto de los sustratos. En el caso de la paja cabría esperar un valor más elevado, ya que es un sustrato más difícil de fermentar que el resto de los utilizados en este trabajo (Wang y McAllister, 2002). Ese valor tan bajo puede ser debido a que en el proceso de predigestión se solubilizaron componentes de la paja, solubles y rápidamente fermentables, por lo que los microorganismos del inóculo fermentaron estos compuestos rápidamente y posteriormente apenas se produjo fermentación y producción de gas.

La celobiosa presentó la máxima ( $P < 0,05$ ) velocidad de producción de gas ( $\mu_m$ ) y la paja presentó el mínimo valor ( $P < 0,05$ ), siguiendo los sustratos la misma tendencia observada para la máxima producción de gas ( $V_f$ ). El tiempo en el que se alcanzó la máxima producción de gas ( $T_i$ ) fue similar ( $P > 0,05$ ) para la glucosa, la celobiosa y la paja, mientras que las pectinas y la pulpa de remolacha presentaron mayores valores ( $P > 0,05$ ). La comparación entre sustratos obtenida en nuestro trabajo es similar a la descrita por Yang et al. (2010), quienes analizaron la fermentación *in vitro* de glucosa, celobiosa, celulosa microcristalina y pared celular de heno de alfalfa utilizando contenido cecal de conejos como inóculo. Estos autores también observaron que la glucosa y la celobiosa producían una mayor cantidad de gas en comparación con el resto de sustratos utilizados, a pesar de que únicamente midieron la producción de gas a las 72 h y no en varios intervalos hasta las 144 h como en nuestro trabajo.

Los valores de los parámetros de la cinética de producción de gas obtenidos en nuestro estudio son similares a los obtenidos por Larrea (2014) utilizando inóculo de cecótrofos



recogidos del recto de los animales, con la excepción del parámetro L de la paja, que fue mayor que el observado en nuestro trabajo (48,3 vs. 6,94). Este hecho puede deberse a que en el estudio de Larrea (2014) no se realizó una predigestión de los sustratos antes de la incubación *in vitro*, por lo que no se liberaron compuestos rápidamente fermentables y la producción de gas tardó más tiempo en iniciarse.

**Tabla 1. Valores de los parámetros de la cinética de producción de gas para cada sustrato<sup>1</sup>**

| Sustratos          | Vf                | k                  | L                  | $\mu_m$            | T <sub>i</sub>      |
|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Glucosa            | 291 <sup>D</sup>  | 0,045 <sup>C</sup> | 8,93 <sup>A</sup>  | 12,42 <sup>D</sup> | 18,37 <sup>A</sup>  |
| Celobiosa          | 323 <sup>E</sup>  | 0,096 <sup>D</sup> | 18,27 <sup>D</sup> | 30,97 <sup>E</sup> | 22,13 <sup>AB</sup> |
| Pectinas           | 251 <sup>C</sup>  | 0,032 <sup>B</sup> | 13,41 <sup>C</sup> | 7,30 <sup>C</sup>  | 27,23 <sup>C</sup>  |
| Pulpa de remolacha | 151 <sup>B</sup>  | 0,019 <sup>A</sup> | 12,71 <sup>B</sup> | 2,09 <sup>B</sup>  | 37,82 <sup>D</sup>  |
| Paja               | 41,1 <sup>A</sup> | 0,043 <sup>C</sup> | 6,94 <sup>A</sup>  | 0,80 <sup>A</sup>  | 21,65 <sup>AB</sup> |
| SEM <sup>2</sup>   | 6,35              | 0,0039             | 2,75               | 2,49               | 5,55                |
| P-valor            | <0,001            | <0,001             | <0,001             | <0,001             | <0,001              |

<sup>A-E</sup> Medias en la misma columna con diferentes superíndices son diferentes ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup> Vf: máxima producción de gas acumulada (ml). k: tasa fraccional de fermentación (%/h). L: tiempo hasta que empieza la producción de gas (h).  $\mu_m$ : máxima velocidad de producción de gas (ml/h). T<sub>i</sub>: tiempo en el que la velocidad de producción de gas es máxima (h).

<sup>2</sup> Error estándar de la media

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta prueba se corresponden bien con los resultados de otros experimentos *in vitro* en los que se utilizaron contenido cecal o cecótrofos recogidos del recto como inóculo, lo que indicaría que se pueden utilizar cecótrofos recién excretados como inóculo para las incubaciones *in vitro*, no siendo necesario sacrificar a los animales para obtener contenido cecal o cecótrofos del recto.

## BIBLIOGRAFÍA

- Carabaño, R., Rebollar, P.G., Gomez-Conde, M.S., Chamorro, S., Garcia, J., De Blas, J.C. 2005, FEDNA. pp. 113-119. Madrid.
- Goering H. K., Van Soest, P. J. 1970. USDA-ARS Agriculture Handbook Washington, DC, USA. 379.
- Jehl N., Gidenne T. 1996. Animal Feed Science and Technology 61: 193-204.
- Larrea, J.A. 2014. Trabajo de Fin de Máster. Universidad politécnica de Madrid, Madrid.
- Schofield, P., Pitt, R., Pell, A. 1994. Journal of Animal Science 72: 2980-2991.
- Trocino A., García Alonso J., Carabaño R., Xiccato G. 2013. World Rabbit Sci. 21: 1-15.
- Wang Y., McAllister T.A. 2002. Asian-Australasian Journal of Animal Science 15: 1659-1676.
- Yang H., Cao Y., Zhang D. 2010. Animal Feed Science and Technology 162: 149-154.



## AGRICULTURA Y POBREZA EN REPUBLICA DOMINICANA

De Jesús, Frami

Tutor: Hernández Díaz-Ambrona, Carlos Gregorio

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica De Madrid*  
frami.dejesus@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Este trabajo trata de verificar si la pobreza está vinculada a los modelos productivos agrícolas de las provincias del país relacionando los niveles de pobreza de cada provincia con sus actividades agrarias principales. Como metodología se ha elegido los principales productos agrícolas sembrados y cosechados para correlacionarlos con la pobreza poblacional. Como resultado podemos decir que el mayor nivel de pobreza está en las provincias que se encuentra en la frontera con Haití, lo que es un indicador influyente. Haití tiene fuentes de ingresos restringidas; en cambio las provincias con un nivel de pobreza menor o media están localizadas al Este y al Norte del país, donde están la fuente del turismo y las siembras y cosechas de los principales cultivos. En conclusión, la identificación de los principales productos agrícolas de la República Dominicana es una buena base de partida para disminuir la pobreza con la generación de fuentes de ingresos para el país.

**Palabras Claves:** *Producto Interno Bruto (PIB), Población, Productos agrícolas*

### INTRODUCCIÓN

En la República Dominicana, el sector agrícola según el Ministerio de Economía e Importación de la Republica Dominicana es una actividad que representa alrededor del 6,5% del Producto Interno Bruto (PIB), genera el 21% del total de las exportaciones, e involucra la participación directa o indirecta del 31% de la población. Los principales productos de consumo interno han sido arroz, maíz, frijol, yuca, tomate y plátano. En el caso de los productos para la exportación se destacan la caña de azúcar, café, cacao y tabaco. El objetivo principal es verificar si la pobreza está vinculada a los modelos productivos agrícolas de las provincias del país. Para dar respuesta a este objetivo se va a relacionar los niveles de pobreza de cada provincia con sus actividades agrarias principales.

### METODOLOGÍA

El primer paso fue determinar los principales productos agrícolas sembrados y cosechados (Tabla 1) para realizar una correlación con la pobreza poblacional.

**Tabla 1. Principales cultivos en República Dominicana con sus respectivas superficies cultivadas (ha), producción (t) y rendimiento agrícola (t/ha)**

| Cultivo                            | Área Cultivada (ha) | Producción (t) | Rendimiento (t/ha) |
|------------------------------------|---------------------|----------------|--------------------|
| Arroz                              | 174.636,35          | 542.153,1      | 3,10               |
| Maíz                               | 26.804,91           | 45.846         | 1,71               |
| Caña de azúcar                     | 106.689,94          | 5.363.324,4    | 50,27              |
| Habichuelas (pinta, negra, blanca) | 44.947,30           | 35.704,65      | 0,79               |
| Guandul                            | 15.286,35           | 30.861,95      | 2,02               |
| Plátano                            | 14.174,65           | 203.070,2      | 14,33              |
| Vegetales                          | 22.594,84           | 1.080.461,4    | 47,82              |
| Total                              |                     |                |                    |
| Frutas                             | 8.771,13            | 208.583,9      | 23,78              |
| Total                              |                     |                |                    |

Elaboración propia con datos del Ministerio de Agricultura de la Republica Dominicana



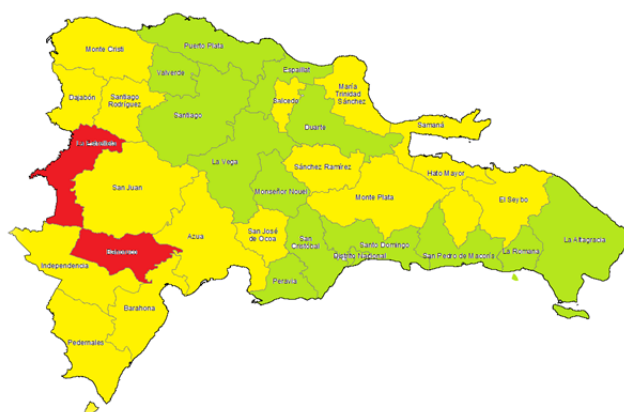
## Pobreza

El nivel de pobreza de cada provincia se ha tomado del cálculo del 2013, denominado SIUBEN II, según dictado en su página oficial <http://www.siuben.gob.do>. La pobreza o Índice de Calidad de Vida (ICV) está determinada a partir de la información de los hogares, tomando en cuenta la estructura de la vivienda y las personas que la componen. Por ejemplo, algunos datos que se tienen en cuenta son: tipo de vivienda, material de pared, de techo, de piso, acceso a los servicios básicos y jefatura del hogar. Para los miembros del hogar: nivel educativo, situación ocupacional y documentos de identidad. Toda esta información de los miembros del hogar y la vivienda conforman (ICV). Para la construcción del ICV, se aplicó el método denominado **Proxy Means Testing** referenciado en la página web oficial <http://www.siuben.gob.do>. Esta metodología se sustenta en métodos estadísticos, que generan un conjunto de ponderadores combinando información de 17 variables altamente correlacionadas con la calidad de vida de las familias. Se dispone de un conjunto de ponderadores para la zona urbana, metropolitana y rural. La medición de la pobreza se efectúa a partir de un enfoque multidimensional, que combina distintas características de la vivienda, el hogar y sus miembros cuyo modelo de cálculo obtiene valores en una escala 0 a 100 que resumen el grado de pobreza de cada hogar. Un hogar tiene más baja calidad de o pobreza cuanto el ICV es menor y viceversa.

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Podemos observar en la Figura 1 que el mayor nivel de pobreza está en las provincias del Oeste, que se encuentra en la frontera con Haití, lo que es un indicador relevante porque en el país de Haití no existen muchas fuentes de ingresos. Podemos observar también en la Figura 1 que las provincias con un nivel de pobreza menor o media están localizadas al Este y al Norte, donde está la fuente del turismo y las siembras y cosechas de los principales cultivos del país. En República Dominicana el índice de pobreza de cada provincia se correlaciona con la actividad económica de la misma. Podemos observar en la Tabla 2 que en el país las actividades económicas ganadería y/o agricultura la realizan las provincias con el índice de pobreza cerca de 0, esto se debe a que la mayor parte de los habitantes son de la región con un nivel bajo de escolarización. En cambio las provincias con mayor índice de pobreza (alejado del 0) realizan actividades económicas como turismo e industrias. Dichas actividades tienden a disminuir el desempleo y la pobreza.

**Figura 1. Nivel de pobreza de cada hogar en República Dominicana.**



■ Baja Pobreza 55-100 ■ Pobreza Medio 46-54 ■ Pobreza extrema 0-45

Elaboración propia con datos del Sistema Único de Beneficiarios (SIUBEN) República Dominicana

**Tabla 2. Actividades Económicas provinciales.**

(Cuanto más se acerca a 0 el índice de pobreza, la provincia es más pobre)

| Provincia              | Región          | *Índice Pobreza | Actividades económicas   |
|------------------------|-----------------|-----------------|--|
| Distrito Nacional      | Este            | 70,10           | Industrias y turismo   |
| Santo Domingo          | Este            | 63,70           | Industrias y turismo   |
| Santiago               | Norte/Ci<br>bao | 62,60           | Agricultura, ganadería, avicultura, porcicultura, industrias de ron y tabaco |
| La Romana              | Este            | 60,10           | Agricultura y ganadería vacuna   |
| Monseñor Nouel         | Norte/Ci<br>bao | 59,10           | Agropecuaria, ganadería vacuna lechera, turismo y minería                    |
| San Pedro de Macorís   | Este            | 57,90           | Agricultura, turismo   |
| San Cristóbal          | Sur             | 56,70           | Industrias   |
| Puerto Plata           | Norte/Ci<br>bao | 56,60           | Agricultura, turismo, industrias alimentarias y bebidas alcohólicas          |
| La Vega                | Norte/Ci<br>bao | 56,50           | Agropecuaria, producción avícola, porcina y vacuna (especialmente de leche)  |
| Peravia                | Sur             | 56,30           | Agropecuaria, pesca, ganadería vacuna y caprina                              |
| Españat                | Norte/Ci<br>bao | 56,20           | Agropecuaria, avicultura y ganadería vacuna                                  |
| Duarte                 | Norte/Ci<br>bao | 56,10           | Agricultura y ganadería vacuna, avícola y porcina                            |
| La Altagracia          | Este            | 55,90           | Turismo  |
| Valverde               | Norte/Ci<br>bao | 55,40           | Ganadería  |
| María Trinidad Sánchez | Norte/Ci<br>bao | 53,80           | Agricultura y pesca  |
| Sánchez Ramírez        | Norte/Ci<br>bao | 53,60           | Industria de tabaco, Ganado vacuno, pecuaria, avicultura, porcicultura       |
| Salcedo                | Norte/Ci<br>bao | 53,10           | Agrícola   |
| Samaná                 | Norte/Ci<br>bao | 52,50           | Agricultura, turismo, pesca y minería  |
| Dajabón                | Norte/Ci<br>bao | 52,30           | Agricultura y ganadería vacuna, ovina, porcina y avícola                     |
| Montecristi            | Norte/Ci<br>bao | 51,80           | Turismo, Industrias  |
| Barahona               | Sur             | 51,40           | Agricultura y Ganadería bovina, caprina, porcina y ovina                     |
| Santiago Rodríguez     | Norte/Ci<br>bao | 51,20           | Agropecuaria   |
| Hato Mayor             | Este            | 50,80           | Agricultura y ganadería pecuaria, vacuno(leche), porcina, caprino            |
| Azua                   | Sur             | 49,90           | Agricultura y Ganadería  |
| Pedernales             | Sur             | 49,00           | Agropecuaria, pesca y ganadería vacuna                                       |
| Independencia          | Sur             | 48,50           | Agropecuaria y ganadería vacuna y caprina                                    |
| San José de Ocoa       | Sur             | 48,30           | Agricultura, silvicultura y pesca  |
| Monte Plata            | Este            | 46,50           | Ganadería vacuna, Agropecuaria y agricultura                                 |
| El Seibo               | Este            | 46,30           | Ganadería Vacuna   |
| San Juan               | Sur             | 46,00           | Ganadería lechera y agrícola   |
| Bahoruco               | Sur             | 44,60           | Agricultura  |
| Elías Piña             | Sur             | 38,20           | Agricultura y Ganadería  |

Elaboración propia con datos del Ministerio de Agricultura Republica Dominicana



## CONCLUSIONES

Una mayor inversión orientada a la mejora de los sistemas de producción agraria (incluidas la producción agrícola y la ganadería), en equilibrio con la creación de nuevos puesto de trabajo en sectores afines, repercutiría directamente sobre las provincias más desfavorecidas y fomentaría la disminución de su pobreza.

La identificación de los principales productos agrícolas del país es una buena base de partida para disminuir la pobreza y le genera fuentes de ingresos para el país.

## BIBLIOGRAFÍA

Programa de Cooperación FAO/Banco Mundial. 1993. Proyecto de desarrollo agrícola bajo riego y en la cuenca del Nizao (2 volúmenes), 93

Programa de Cooperación FAO/Banco Mundial. 1991. REPUBLICA DOMINICANA Irrigated Farming Development Project. Project Brief. Documento No. 117/91

OFICINA NACIONAL DE ESTADÍSTICAS ONE.2012. Metodología para el cálculo de la medición oficial de la pobreza monetaria en República Dominicana, 90

MINISTERIO DE AGRICULTURA DE REPUBLICA DOMINICANA. 2012.Viceministerio de Planificación sectorial agropecuaria. Departamento de Economía Agropecuaria. Estadísticas del sector Agropecuario, de Republica Dominicana, 2012-2013.132 pp.

MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE 2016. Plan estratégico institucional. Disponible en <http://www.ambiente.gob.do/Documents/Plan%20Estrategico%20Institucional%202012-2016.pdf>

MINISTERIO DE ECONOMÍA, PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO 2006.Atlas de la pobreza.pdf. Disponible en [http://economia.gob.do/mepyd/wp-content/uploads/archivos/planificacion/atlas-de-la-pobreza-\(version-final\).pdf](http://economia.gob.do/mepyd/wp-content/uploads/archivos/planificacion/atlas-de-la-pobreza-(version-final).pdf)



## OCCURRENCE OF PHARMACEUTICAL COMPOUNDS IN SOIL FROM SPANISH AGRICULTURAL FIELDS

Aznar, Ramón<sup>1</sup>; Albero, Beatriz<sup>1</sup>; Sánchez-Brunete, Consuelo<sup>1</sup>

Tutores: Vallejo, Antonio<sup>2</sup>; Tadeo, José Luis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medio Ambiente, INIA, Carretera de la Coruña, Km. 7, Madrid, Spain.

<sup>2</sup>Departamento de química y tecnología de los alimentos. Escuela de Ingenieros Agrónomos.  
aznar.ramon@inia.es

### ABSTRACT

Pharmaceuticals waste have drawn the attention of the scientific community due to their wide occurrence in the environment. These compounds may be present in soil by the leaching from animal farms, the use of manure and sludge as fertilizers and water from wastewater treatment plants (WWTPs) for irrigation. Furthermore, pharmaceuticals can be introduced in the food chain through plant uptake. Hence, the presence of these compounds in agricultural soils should be monitored. This study describes the occurrence of 15 pharmaceuticals in soil from Spanish agricultural fields (rice, citrus, horticultural and cereal). Twelve of 15 compounds were detected, the most common being ibuprofen, salicylic acid and paracetamol. Rice fields were the most contaminated because they are irrigated with water from WWTPs. The relationship between the soil characteristics and occurrence of pharmaceutical compounds was also studied. Although the concentrations found were negligible, further research needs to be done to quantify the possible negative effects on the environment.

**Keywords:** *pharmaceuticals, agricultural soils, WWTPs*

### INTRODUCTION

At present, approximately 3000 different pharmaceutical ingredients are used in the European Union (Termes and Joss 2006). Pharmaceutical compounds are administered in large quantities to humans and animals and after consumption, they are released into the environment mainly through discharge of wastewater treatment plants (WWTPs) or from biosolids applied to land (Al Aukidy et al. 2012). The discharge from septic system effluents and disposal of sewage sludge are other potential sources that can introduce pharmaceuticals into the environment (Kinney et al. 2006). The presence of pharmaceutical chemicals in the environment has long been recognized as a concern because it is likely that some of these compounds may pose a risk to flora and fauna (Stuart et al. 2012). Moreover, residual pharmaceuticals have the potential to be taken up by edible plants and then enter the food chain (Shenker et al. 2011).

A number of researchers have detected pharmaceutical compounds in environmental samples throughout North America and Europe (Al Aukidy et al. 2012, Metcalfe et al. 2003), generally originating from the discharge of treated wastewater effluents, the use of reclaimed water for irrigation or soil application of biosolids. Although they report levels of pharmaceuticals in soils located in different environmental areas, information regarding the concentration of these compounds in agricultural soils growing different crops is scarce in the available scientific literature, and only residues of a small number of pharmaceuticals have been reported (Walker et al. 2012).

The aim of this study was to evaluate the presence of 15 widely used pharmaceutical compounds, belonging to different therapeutic classes with a wide range of physico-chemical properties in soil from agricultural fields located in three Spanish regions (Valencia, Murcia and Segovia). In addition, we considered how different crops affected



the levels of pharmaceuticals in soil, as well as the relationship between soil physical-chemical properties and pharmaceutical pollution.

## MATERIALS AND METHODS

Thirty-one samples were collected from several Spanish areas: 8 samples from rice fields, 6 from citrus orchards, 5 from horticultural fields (potatoes and cabbage) and 12 from cereal farmland (wheat and barley). Samples were taken from surface soil (0-10 cm), where the contamination is generally higher (Chen et al. 2011), collected in glass jars (100-250 g), air dried, ground to pass through a 2 mm screen and stored at -20 °C until analyzed.

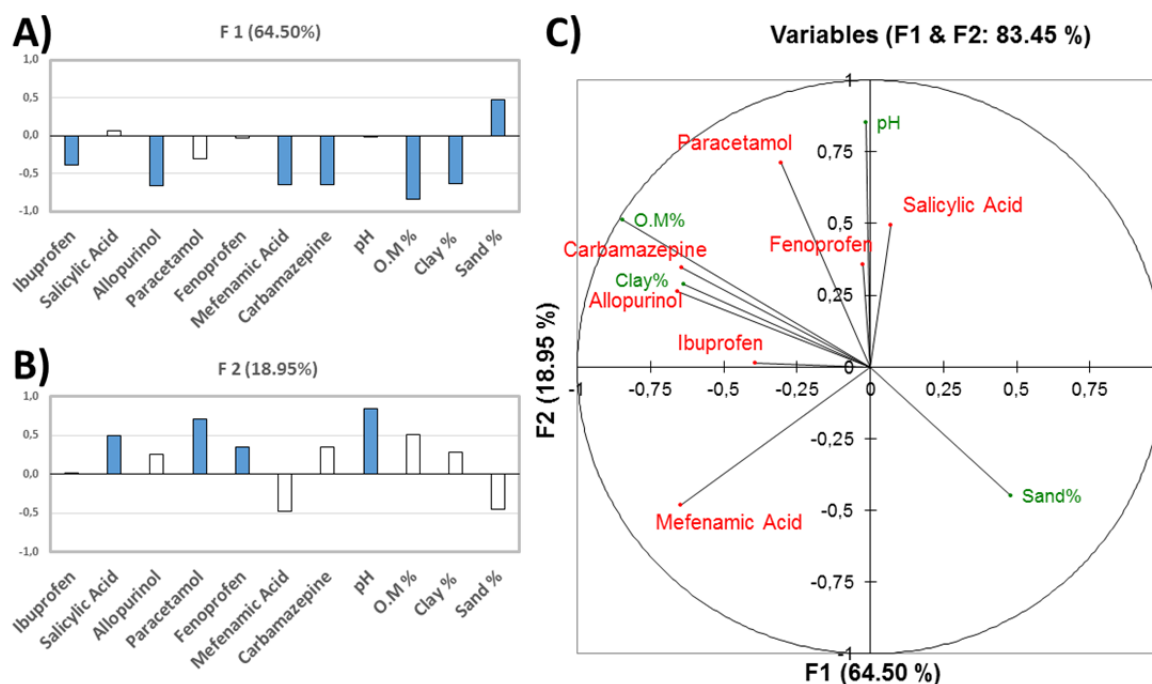
The analyses to detect pharmaceutical compounds (Table 1) in soil were carried out according to Aznar et al. (2014). Briefly, analytes were extracted from 5 g of soil using ultrasound assisted extraction, in two steps (acid and basic acetonitrile). Extracts were evaporated to dryness and reconstituted to 1 mL with acetonitrile. An aliquot (100  $\mu$ L) of the extract was transferred into a 2 mL reaction vial, followed by the addition of 50  $\mu$ L of MTBSTFA:TBDMCS (99:1, v/v) to make the compounds volatile at gas chromatograph conditions. The vials were closed and the mixture left to react for 1 h at 70 °C before the gas chromatography-mass spectrometry analysis.

Significant differences between crop means were assessed through non-parametric ANOVA and Kruskal-Wallis tests ( $p = 0.01$ ). To study the relationship between soil properties and levels of pharmaceuticals found in soil, canonical correlation analysis (CCorA) was used. All the statistical analyses were carried out using the XLSTAT (Addinsoft Version 2012.2.02).

## RESULTS AND DISCUSSION

The CCorA results are plotted in Fig. 1 and proved to be highly significant.

**Figure 1. A) Factor 1 B) Factor 2 C) CCorA of the soil parameters (Organic matter % (OM), pH, Sand % and Clay %) and levels of pharmaceutical compounds.**







The first two factors (F1 and F2) (Fig. 1A & 1B, respectively) in the multivariate analysis represented 83 % of total variance and showed, as expected, that all the pharmaceutical compounds are negatively affected by the sand percentage in soil. On the other hand, paracetamol and salicylic acid tend to appear in soil with high pH and carbamazepine and allopurinol tend to group with a higher organic matter (OM) and clay content, which may favor the retention of these compounds in the soil matrix (Fig. 1C).

Table 1 summarizes the range of concentrations found, together with the detection frequencies for each compound. Three of the 15 pharmaceuticals studied (amitriptyline, ketoprofen and diclofenac) were not detected in any of the samples and one compound (metoprolol) was detected but not quantified. This fact could be explained by their low consumption and also because some of them have a low soil adsorption (Lin and Gan 2011, Xu et al. 2009). The rest of the pharmaceuticals studied were found at concentration levels up to 47 ng/g.

**Table 1. Concentration of studied pharmaceutical compounds in soil**

| Compound       | Range (ng/g) | Mean $\pm$ SD (ng/g) | Detection rate (%) <sup>a</sup> | Compound       | Range (ng/g) | Mean $\pm$ SD (ng/g) | Detection rate (%) <sup>a</sup> |
|----------------|--------------|----------------------|---------------------------------|----------------|--------------|----------------------|---------------------------------|
| Clofibric acid | nd - 0.7     | 0.7                  | 3                               | Metoprolol     | nd - nq      | nq                   | 3                               |
| Ibuprofen      | nd - 1.5     | 0.5 $\pm$ 0.4        | 81                              | Naproxen       | nd - 5.9     | 0.7 $\pm$ 2.2        | 19                              |
| Salicylic acid | 1.4 - 37.1   | 4.4 $\pm$ 6.2        | 100                             | Mefenamic acid | nd - 2.7     | 1.5 $\pm$ 0.8        | 32                              |
| Allopurinol    | nd - 47      | 1.3 $\pm$ 16.2       | 45                              | Ketoprofen     | nd           | nd                   | nd                              |
| Paracetamol    | nd - 0.5     | 0.4 $\pm$ 0.1        | 71                              | Carbamazepine  | nd - 2.8     | 1.2 $\pm$ 1.0        | 45                              |
| Gemfibrozil    | nd - 5.4     | 3.6 $\pm$ 2.1        | 6                               | Diclofenac     | nd           | nd                   | nd                              |
| Fenoprofen     | nd - 3.2     | 0.8 $\pm$ 1.1        | 42                              | Fenofibrate    | nd - 7.8     | 7.0 $\pm$ 1.0        | 6                               |
| Amitriptyline  | nd           | nd                   | nd                              |                |              |                      |                                 |

<sup>a</sup> n = 31; nd, not detected; nq, not quantified

As shown in Table 1, salicylic acid was found in all samples, followed by ibuprofen (81%) and paracetamol (71%), which can be explained by the high consumption of these compounds in the population. But the concentration of ibuprofen in all samples is relatively low (< 1.5 ng/g), due to its low soil adsorption and high biodegradability (Lin and Gan 2011).

Table 2 shows occurrence of pharmaceutical compounds grouped by type of crop and area of sampling. Soil samples from rice fields had the highest levels of ibuprofen, allopurinol, mefenamic acid and carbamazepine ( $p < 0.01$ ). This is probably because those crops are mainly irrigated using water from WWTPs.

**Table 2. Statistical summary (mean  $\pm$  standard deviation) of the levels of pharmaceutical compounds**

|                | Crop              |                   |                    |                   |
|----------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|                | Cereal            | Vegetables        | Citrus             | Rice              |
| Ibuprofen      | 0.0 $\pm$ 0.1 (a) | 0.0 $\pm$ 0.1 (a) | 0.1 $\pm$ 0.2 (a)  | 0.4 $\pm$ 0.4 (b) |
| Salicylic acid | 3.2 $\pm$ 2.2 (a) | 2.8 $\pm$ 1.8 (a) | 3.8 $\pm$ 11.4 (a) | 4.8 $\pm$ 2.5 (a) |
| Allopurinol    | 0.0 $\pm$ 0.0 (a) | 0.0 $\pm$ 3.5 (a) | 0.0 $\pm$ 15.5 (a) | 0.1 $\pm$ 0.7 (b) |
| Paracetamol    | 0.1 $\pm$ 0.1 (a) | 0.1 $\pm$ 0.1 (a) | 0.1 $\pm$ 0.2 (a)  | 0.1 $\pm$ 0.1 (a) |
| Fenoprofen     | 0.0 $\pm$ 0.7 (a) | 0.0 $\pm$ 0.0 (a) | 0.0 $\pm$ 1.0 (b)  | 0.0 $\pm$ 0.4 (a) |
| Mefenamic acid | 0.0 $\pm$ 0.5 (b) | 0.0 $\pm$ 0.0 (a) | 0.0 $\pm$ 0.0 (a)  | 0.0 $\pm$ 0.4 (b) |
| Carbamazepine  | 0.0 $\pm$ 0.0 (a) | 0.0 $\pm$ 0.3 (b) | 0.0 $\pm$ 0.3 (b)  | 1.4 $\pm$ 1.0 (c) |



|                | Agricultural areas |               |               |
|----------------|--------------------|---------------|---------------|
|                | Murcia             | Segovia       | Valencia      |
| Ibuprofen      | 0.1 ± 0.1 (a)      | 0.1 ± 0.1 (a) | 0.1 ± 0.3 (a) |
| Salicylic acid | 3.5 ± 2.0 (a)      | 3.8 ± 2.3 (a) | 3.9 ± 7.2 (a) |
| Allopurinol    | 0.0 ± 0.1 (a)      | 0.0 ± 0.1 (a) | 0.1 ± 9.7 (b) |
| Paracetamol    | 0.0 ± 0.0 (a)      | 0.0 ± 0.1 (a) | 0.1 ± 0.2 (b) |
| Fenoprofen     | 0.0 ± 0.0 (a)      | 0.3 ± 0.8 (b) | 0.0 ± 0.7 (a) |
| Mefenamic acid | 0.0 ± 0.0 (a)      | 0.1 ± 0.6 (b) | 0.0 ± 0.3 (a) |
| Carbamazepine  | 0.0 ± 0.0 (a)      | 0.0 ± 0.0 (a) | 0.5 ± 1.0 (b) |

a, b and c: Significant difference ( $p < 0.01$ ) between types of crop (Cereal, Vegetables, Citrus and Rice) and Agricultural areas (Murcia, Segovia and Valencia).

Regarding the area of sampling, Valencia showed the highest concentration of three compounds; paracetamol, allopurinol found in 85.7 % of the samples and carbamazepine present in all the samples. Fenoprofen was found predominantly in Segovia, in cereal soils (42 % of the total samples). Those results could be explained by the type of irrigation (Shenker et al. 2011), with surface water and water from WWTPs in the area of Valencia, water from a shallow aquifer in Segovia (vulnerable to be polluted) and from a deeper and impermeable aquifer in Murcia.

Although the levels of compounds found was relatively low, continuous release and chronic exposure to these substances may have adverse effects on aquatic life and human health (Stuart et al. 2012), so their levels should be monitored.

## CONCLUSIONS

The analysis of soil samples from agricultural fields in Spain showed the presence of various pharmaceutical compounds at low concentrations, highlighting the ubiquitous presence of the widely used anti-inflammatory drugs ibuprofen, salicylic acid and paracetamol, as well as fenoprofen in Segovia and allopurinol and carbamazepine in Valencia.

Carbamazepine and allupurinol appear to accumulate more in soils with high OM and clay content. The soil used for rice crops was the most polluted, which may be also caused by irrigating with water from WWTPs.

## ACKNOWLEDGMENTS

Authors wish to thank INIA for the predoctoral fellowship (R. Aznar) and Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (RTA2011-00047) for financial support.

## REFERENCES

- Aznar R., Sánchez-Brunete C., Albero B., Rodríguez J.A., Tadeo J.L. 2014 Environ. Sci. Pol. Resch  
Al Aukidy M., Verlicchi P., Jelic A., Petrovic M., Barcelo D. 2012 Sci. Total Environ. 438:15-25  
Chen F., Ying G.G., Kong L.X., Wang L., Zhao J.L., Zhou L.J., Zhang L.J. 2011 Environ. Pollut. 159:1490-1498  
Kinney C.A., Furlong E.T., Werner S.L., Cahill J.D. 2006 Environ. Toxicol. Chem. 25:317-326  
Lin K.D. and Gan J. 2011 Chemosphere 83:240-246  
Metcalf C.D., Miao X.S., Koenig B.G., Struger J. 2003 Environ. Toxicol. Chem. 22:2881-2889  
Shenker M., Harush D., Ben-Ari J., Chefetz B. 2011 Chemosphere 82:905-910  
Stuart M., Lapworth D., Crane E., Hart A. 2012 Sci. Total Environ. 416:1-21  
Termes T. and Joss A. (2006) Human pharmaceuticals, hormones and fragrances. IWA Publishing. UK  
Vazquez-Roig P., Andreu V., Onghena M., Blasco C., Pico Y. 2011 Anal. Bioanal. Chem. 400:1287-1301  
Walker C.W., Watson J.E., Williams C. 2012 J. Environ. Qual. 41:1263-1267  
Xu J., Wu L.S., Chang A.C. 2009 Chemosphere 77:1299-1305



## METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE GASES DE ESCAPE SOBRE CULTIVOS DE MICROALGAS

Martín Girela, María Isabel

Tutor: Fernández González, Jesús

*Depto. de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*  
*isabel.marting@upm.es*

### RESUMEN

Se presenta una metodología para estudiar experimentalmente, en condiciones de laboratorio, el efecto de gases de escape, o mezclas de gases, sobre el crecimiento de poblaciones de microalgas. La instalación experimental está compuesta por dos líneas independientes de 5 minifotobiorreactores, conectados en serie, por una de las cuales fluyen los gases a ensayar y por la otra, aire atmosférico, midiendo periódicamente el efecto sobre el crecimiento de los cultivos. Se realiza una prueba de demostración sobre el crecimiento de las poblaciones de microalgas con gases de escape de un motor de gasolina en comparación con el crecimiento con aire atmosférico. Los resultados obtenidos en la prueba indican que el crecimiento es muy superior en los cultivos con gases de escape que en el caso del aire (más de 6 veces en el mejor de los casos) y dentro de los primeros, el que tiene peor crecimiento es el primer minifotobiorreactor que recibe directamente los gases de escape, lo que podría evitarse con un lavado previo de estos gases en agua. También se observó que los gases de escape afectan con diferente intensidad al desarrollo de las poblaciones de las distintas especies iniciales, cosa que no ocurre con el aire atmosférico.

**Palabras clave:** microalgas, gases de escape, biomasa algal

### INTRODUCCIÓN

Los cultivos de microalgas tienen un creciente interés a nivel científico e industrial, debido a la elevada producción de biomasa que se puede alcanzar con estos microorganismos y por los efectos favorables sobre el medio ambiente que puede producir su cultivo, tanto en el aspecto de depuración de aguas residuales, como para la captación de gases de escape procedentes de la combustión de combustibles fósiles. La producción de biomasa por las microalgas está directamente relacionada con la absorción de  $\text{CO}_2$  y con la energía de las radiaciones del espectro visible (de 400 a 700 nm), actuando ambos como factores limitantes de la producción, por lo que es muy importante para el mantenimiento de elevados niveles productivos el que ambos factores estén disponibles sin limitaciones para el cultivo. La fuente de iluminación más abundante y barata es la energía solar y su óptima absorción por el cultivo se puede conseguir con una buena geometría de diseño de los sistemas de cultivo (fotobiorreactores). La fuente más asequible de  $\text{CO}_2$  para los cultivos de microalgas es el aire atmosférico, pero debido a su bajo contenido en este compuesto (del orden de 360 ppm) resulta muy difícil, mediante aireación solamente, tener un medio de cultivo enriquecido en  $\text{CO}_2$ , para lograr altas producciones de biomasa. A este respecto, el carbono constituye cerca del 47 % de la biomasa algal (expresada en materia seca (m.s.)), siendo necesaria la absorción de algo más de 1,7 kg de  $\text{CO}_2$  para la formación de 1 kg de materia seca de biomasa de microalgas. Según Kadam (1997) el suministro de  $\text{CO}_2$  a los cultivos representa una parte sustancial de los costes de operación de los sistemas de producción de microalgas, y para su reducción se han propuesto diversas aproximaciones utilizando gases con un alto contenido en  $\text{CO}_2$  (García, 2015) procedentes de, centrales eléctricas de carbón (Maeda, 1995; Kadam, 2002) o de keroseno (Chae et al., 2006), calderas de gas natural (Doucha et al., 2005), incineradoras de residuos (Wang et al., 2008), o mezclas de gases de combustión simuladas (Brown, 1996).



Uno de los problemas que pueden presentar estos gases son las sustancias que acompañan al CO<sub>2</sub> que, si son tóxicos para las microalgas, podría obligar a eliminarlos previamente a su introducción en el cultivo. A este respecto, se han realizado experiencias de tolerancia a diversos gases con distintas microalgas, siendo las más utilizadas especies de los géneros *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Nannochloropsis* y *Chlorococcum*, empleando concentraciones de CO<sub>2</sub> que van desde el nivel atmosférico (0.03%) hasta el 100% (Seckbach et al., 1970; Kurano et al., 1995). Las especies del género *Chlorella* han sido ampliamente estudiadas y utilizadas en procesos de biomitigación de gases de origen industrial (Van Den Hende et al., 2012), aunque las condiciones de cultivo, los valores para la asimilación de carbono y los contenidos en óxidos nitrosos y sulfurosos son muy heterogéneos, como se recoge en revisiones recientes (Pires et al., 2012). Según datos ya citados por Nielsen (1995) la concentración adecuada de CO<sub>2</sub> en el aire suministrado al cultivo debería ser del orden del 5 %, habiéndose constatado que en general, el crecimiento de las microalgas se inhibe a altas concentraciones de CO<sub>2</sub>.

Con objeto de estudiar el efecto de gases de combustión sobre el crecimiento de una población de algas, se ha diseñado un sistema experimental que permite seguir el efecto directo de los gases de emisiones sobre un cultivo poliespecífico de microalgas y de los mismos gases tras pasar por diversas etapas de lavado. En el presente trabajo se ha aplicado esta metodología para evaluar el crecimiento de un cultivo heterogéneo de microalgas con gases de escape de un motor de combustión de gasolina en comparación con cultivos no afectados por estos gases. La evaluación del efecto se realiza mediante el seguimiento de la variación de la densidad óptica (D.O.) originada por el crecimiento de los cultivos y la evolución de las especies sembradas inicialmente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción de la instalación. La instalación experimental consta de dos líneas independientes de 5 minifotobiorreactores (MFR) cada una, termostatizadas mediante un baño transparente de agua destilada. Cada MFR tiene una capacidad de 150 ml. Por una de las líneas se hace pasar aire atmosférico y por la otra los gases de escape. El aire o los gases de escape se pasan por el primer MFR de cada línea y al salir de éste pasan al segundo y así sucesivamente hasta salir al exterior después de pasar por el quinto. El caudal de aire en cada serie se regula mediante un rotámetro. Los gases de escape, antes de pasar por los MFR pasan por una columna de gel de sílice para eliminar el posible vapor de agua que contengan y acto seguido por un medidor automático de gases, que determina el contenido en CO<sub>2</sub> y NOx. En la Figura 1 se presenta el esquema de la instalación.

Ensayo práctico de la instalación:

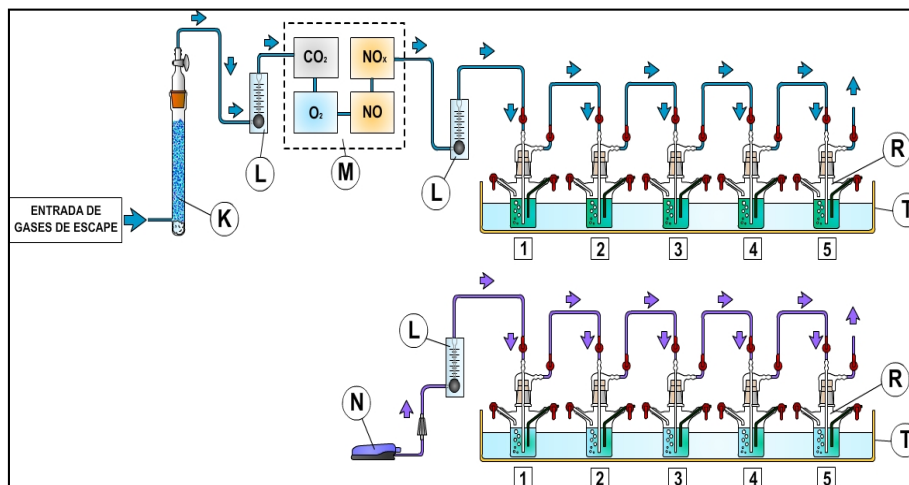
Condiciones experimentales: La experiencia se realizó en baño termostatizado a 30°C, en invernadero con iluminación solar natural atenuada por la lámina de polietileno de la cubierta. El fotoperiodo fue de 15-16h de luz y 8-9h de oscuridad. Los gases de escape se obtuvieron de un motor Honda de cuatro tiempos, de 5,5 CV, trabajando en ralentí (1400 rpm) y dieron unos valores medios de 6% de CO<sub>2</sub> y alrededor de 100 ppm de NOx. El contenido en CO<sub>2</sub> del aire atmosférico era de 0,04 %. En ambas líneas la inyección de aire o de gases de escape se realizaba durante el periodo de luz (flujo: 0,5 L/min).

Preparación de los MFR: A cada uno de los 10 MFR se añadieron 100 ml de un medio de cultivo desarrollado por Rodríguez López (1964), con 140 ppm de N, 150ppm de P y 391ppm de K, inoculado con un conjunto de especies de microalgas en fase de



crecimiento exponencial (principalmente *Chlorella sp.* en un 95 %, y *Scenedesmus sp.*, *Ankistrodesmus sp* y especies ciliadas y flageladas el 5% restante).

**Figura 1. Instalación para estudio del efecto de gases de escape (línea superior) sobre el crecimiento de las microalgas, en comparación con el aire atmosférico (línea inferior). Los elementos que componen la instalación son: K, columna de gel de sílice; L, rotámetros; M, medidor de gases ( $\text{CO}_2$  y  $\text{NO}_x$ ); R, minirreactores denominados abreviadamente MFR (cada serie numerada del 1 al 5); T, baño de agua; N, minicompresor.**



Duración de la experiencia y muestreos. La experiencia tuvo lugar en el mes de junio durante 14 días. Se realizó un muestreo inicial y muestreos periódicos para evaluar el crecimiento de las microalgas en cada MFR. Para ello los MFR se enrasaban con agua destilada hasta los 100 ml y tras agitar para homogeneizar los posibles depósitos, se extraían 4 ml. de cada uno, que una vez realizadas las determinaciones pertinentes, eran devueltos a su MFR respectivo. Al final del periodo de 14 días se evaluó la proporción de las especies presentes para conocer su grado de adaptación a las condiciones expuestas. Las observaciones se realizaron con un microscopio Olympus BX40 provisto de cámara fotográfica.

Estimación de concentración de microalgas en los MFR. La estimación de la concentración de la biomasa algal en el medio se realizó mediante mediciones de la D.O. del medio a 580 nm mediante un fotómetro DINKO, utilizando la recta de regresión: Concentración algal (mg de m.s./L) =  $179 \times \text{D.O.}_{580}$ , realizada al efecto con concentraciones variables de biomasa algal entre 0,15 y 0,7 mg de m.s./L.

Presentación de los resultados. La presentación de los resultados de la experiencia se realiza en forma de tabla, en la que se expresa la variación en el tiempo de la densidad óptica relativa (D.O.R.), expresada como cociente entre la D.O. del cultivo, respecto a la D.O. inicial de cada MFR, que se toma como unidad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto al crecimiento del cultivo, durante las 2 semanas que duró la experiencia, en la Tabla I se indica la D.O.R. obtenida en los distintos MFR en cada muestreo. Los resultados indican que el crecimiento es muy superior en los MFR borboteados con gases de escape que en los borboteados con aire y dentro de los primeros, el que tiene peor crecimiento es el primero que recibe directamente los gases de escape. Esto sugiere que si en lugar de borbotear los gases de escape directamente en el cultivo se les hace borbotear previamente en agua, o en algún medio adecuado, se eliminaría su posible toxicidad y favorecería el crecimiento algal.



**Tabla 1. Densidad óptica relativa (D.O.R.) de los cultivos de los MFR borboteados con aire (del 1 al 5) y con gases de escape (del 6 al 10) con relación a la D.O. inicial.**

| Días transcurridos | D.O.R. en los MFR con AIRE |      |      |      |      | D.O.R. en los MFR con GASES DE ESCAPE |       |       |       |       |
|--------------------|----------------------------|------|------|------|------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                    | 1                          | 2    | 3    | 4    | 5    | 6                                     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0                  | 1,00                       | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00                                  | 1,00  | 1,00  | 1,00  | 1,00  |
| 5                  | 1,97                       | 2,07 | 1,41 | 1,65 | 1,32 | 7,30                                  | 9,70  | 9,18  | 9,02  | 8,87  |
| 10                 | 2,38                       | 2,58 | 2,00 | 3,46 | 1,69 | 6,57                                  | 10,11 | 9,60  | 9,45  | 9,43  |
| 14                 | 5,73                       | 5,01 | 3,50 | 2,43 | 2,36 | 6,39                                  | 14,91 | 12,13 | 12,37 | 15,30 |

En relación a la selección de especies producida en ambas líneas, a través de la observación microscópica, se aprecia que la serie borboteada con aire no presenta cambios en las especies iniciales, pero si aparecen en la serie borboteada con gases de escape, donde *Chlorella* y *Scenedesmus* permanecen sin alteración, *Ankistrodesmus* prácticamente desaparece y surgen multitud de acúmulos bacterianos y especies ciliadas y flageladas bacteriófagas.

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que el sistema propuesto resulta válido para estudiar la influencia de gases de efecto invernadero sobre el crecimiento de cultivos de microalgas y que los gases de escape empleados aumentaron el crecimiento de las mismas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Brown, L. M. 1996. "Uptaken of Carbon Dioxide from flue gas by microalgae." *Energy Convers. Mgmt.* 37, 6-8: 1363-1367.
- Chae, S. R., S. T. Kang, Y. Watanabe, H. S. Shin (2006). "Development of an innovative vertical submerged membrane bioreactor (VSMBR) for simultaneous removal of organic matter and nutrients." *Water Research* 40(11): 2161-2167.
- Doucha, J., F. Straka, K. Livansky 2005. "Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella sp.*) in an outdoor open thin layer photobioreactor" *Journal of Applied Phycology* 17: 403-412.
- García, R. 2015. "Producción de biomasa de microalgas rica en carbohidratos, acoplada a la eliminación fotosintética de CO<sub>2</sub>"
- Kadam, K. L. 2002. "Environmental implications of power generation via coal-microalgae cofiring." *Energy* 27(10): 905-922.
- Kadam, K. L. 1997. "Plant flue gas as a source of CO<sub>2</sub> for microalgae cultivation." *Economic impact of different process options. Energy Conversion Manag.* 38: 505-510.
- Kurano, N., H. Ikemoto, H. Miyashita, T. Hasegawa, H. Hata, M. S. 1995. "Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis."
- Maeda, K. 1995. "CO<sub>2</sub> fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae." *Energy Convers. Manag.* 36: 717-720.
- Nielsen, E. S. 1995. "Carbon dioxide as carbon source and narcotic in photosynthesis and growth of *Chlorella pyrenoidosa*." *Physiologia Plantarum* 8(2): 317-335.
- Pires, J. C. M., M. C. M. Alvim-Ferraz, F. G. Martins, M. Simoes 2012. "Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16(5): 3043-3053.
- Rodríguez López (1964). "Medio de cultivo de *Chlorella pyrenoidosa*". Comunicación personal.
- Seckbach, J., F. A. Baker, P. M. Shugarman 1970. "Algae Thrive under Pure CO<sub>2</sub>." *Nature* 227(5259): 744-745.
- Van Den Hende, S., H. Vervaeren, N. Boon 2012. "Flue gas compounds and microalgae: (bio-) chemical interactions leading to biotechnological opportunities." *Biotechnology advances* 30(6): 1405-1424.
- Wang, B., Y. Li, N. Wu, C. Q. Lan (2008). "CO<sub>2</sub> bio-mitigation using microalgae." *Applied Microbiology and Biotechnology* 79(5): 707-718.



## IDENTIFICACIÓN DE FUNCIONES SIMBIÓTICAS ESPECÍFICAS EN HOSPEDADOR EN RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM

Sanz López, Alejandro

Tutor: Palacios Alberti, José Manuel

Departamento de Biotecnología. Unidad de Microbiología. E.T.S.A. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

a.sanzl@alumnos.upm.es

### RESUMEN

En este trabajo se pretende avanzar en el conocimiento de los determinantes simbióticos que controlan el comportamiento de las bacterias endosimbióticas con distintos hospedadores. En particular, el trabajo consiste en el estudio del mutante de la bacteria simbiote de leguminosas, *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* UPM4239. Este mutante muestra dos fenotipos de interés: i) la formación de nódulos no funcionales en guisante, y de nódulos funcionales en lenteja, y ii) la dificultad para crecer en medio de cultivo rico. Se ha realizado una caracterización funcional de este mutante, determinando su capacidad de fijación de nitrógeno. Para el estudio de la base molecular de la mutación presente en esa cepa hemos realizado una complementación usando la genoteca obtenida a partir de la cepa tipo de *Rhizobium leguminosarum* UPM791. El banco de genes se transfirió por conjugación “en masa” al mutante, y se realizó a continuación un ensayo en plantas para aislar los rizobios con la complementación que buscamos (nódulos efectivos en guisante). El DNA aislado de dichos rizobios se sometió a una mutagénesis “in vitro” para encontrar la región implicada en el fenotipo. Las inserciones al azar se han mapeado mediante secuenciación, y estos datos, junto con los procedentes de un ensayo en planta de guisante en el que se inocularon rizobios portadores de las distintas mutaciones permitirán determinar el gen o genes implicados en la eficiencia simbiótica específica de hospedador. Dichos genes pueden ser de interés para el desarrollo de inoculantes rizobianos con una mayor especificidad de hospedador.

**Palabras clave:** Fijación de nitrógeno, mutante, genoteca.

### INTRODUCCIÓN

La fijación biológica de nitrógeno por la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa es un proceso de importancia capital para la agricultura, pues permite racionalizar la aportación de fertilizantes nitrogenados que, cuando se emplean en exceso, producen efectos nocivos por contaminación de aguas, así como por producción de gases de efecto invernadero.

Durante el establecimiento de la simbiosis se produce el reconocimiento entre la bacteria y el hospedador. En este proceso, la planta reconoce diferentes factores de especificidad en *Rhizobium*: factores de nodulación, exopolisacáridos y lipopolisacáridos de membrana y proteínas de secreción, entre otros (Downie, 2010). A pesar de esta especificidad, en ocasiones la misma especie de *Rhizobium* es capaz de nodular diferentes géneros de plantas, constituyéndose los denominados grupos de inoculación cruzada. Nuestra bacteria en estudio, *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* (*Rlv*) nodula los géneros *Pisum*, *Lens*, *Vicia* y *Lathyrus*. Sin embargo, el comportamiento de esta bacteria no es idéntico cuando se asocia con cada una de estas leguminosas. Así, por ejemplo, se han detectado diferencias en el nivel de expresión de la actividad hidrogenasa en plantas de guisante y lenteja noduladas por la misma cepa (Brito et al., 2008). Ello indica que las plantas del mismo grupo de inoculación cruzada reconocen otros factores de *Rhizobium*, además de los citados anteriormente.

La cepa mutante UPM4239, derivada de *Rlv* UPM1137 (Fernández et al., 2005), fue obtenida por inserción del transposón mTn5 a la cepa silvestre (Rubio-Sanz, 2014). El



mutante muestra dos fenotipos de interés: (i) la formación de nódulos no funcionales en guisante y de nódulos funcionales en lenteja (fenotipo Hse; de Host-specific symbiotic efficiency); y (ii) la dificultad para crecer en medio de cultivo rico (TY, con extracto de levadura y triptona). En plantas de guisante el mutante produce unos nódulos de pequeño tamaño y blanquecinos, incapaces de fijar nitrógeno, mientras que los nódulos formados en plantas de lenteja son equivalentes a los formados por la cepa salvaje UPM1137.

El objetivo de este trabajo es el análisis de las bases moleculares que controlan la especificidad de la simbiosis en hospedadores del mismo grupo de inoculación cruzada.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. Conjugación “en masa” de genoteca Rlv UPM791.

Para realizar la conjugación hemos utilizado la genoteca genómica de la cepa Rlv UPM791 como donante, nuestra cepa mutante Rlv UPM4239 como receptor y el plásmido “helper” pRK2013 (Ditta et al., 1980). Esta genoteca constaba de alrededor de 16000 clones. Los pasos realizados son los siguientes:

- a) En un tubo Eppendorf de 1,5 ml colocamos 0,5 ml de cultivo líquido de donante, receptor y “helper”. Centrifugamos 5 minutos a 13000 rpm, resuspendemos el pellet en 50  $\mu$ l de medio YMB y colocamos el cultivo sobre filtros posados sobre placas de medio YMB, que se incuban 16 h a 28°C.
- b) Pasamos el filtro a un tubo con 2 ml de NaCl (0,85%) y Tween 20 (0,1%).
- c) Vorteamos y realizamos diluciones para plaquearlas en YMB tetraciclina 5, nitrofurantoína 5 para realizar el conteo de los transconjugantes obtenidos. Paralelamente pasamos 1 ml de la suspensión de células a un tubo con 5ml de YMB tc5, Nf5 para crecer a 28°C los transconjugantes en masa, del que se realizan sucesivos subcultivos hasta eliminar las células de cepas donadora y “helper”.

### 2. Ensayo en plantas.

Se realizó una inoculación del sustrato (vermiculita) con 60 ml de cultivo de *Rhizobium* sobre una bandeja estéril. El sustrato se homogeneizó y se devolvió a la maceta, en la que se sembraron tres semillas pregerminadas de guisante (*Pisum sativum* cv *Frisson*) o cuatro de lenteja (*Lens culinaris* cv *Magda*). Las macetas se mantuvieron en invernadero durante tres semanas (plantas de guisante) o cuatro (plantas de lenteja), y se regaron con una solución nutritiva libre de nitrógeno (Brito et al., 1994).

### 3. Ensayo de mutagénesis in vitro.

Este ensayo se realizó mediante la inserción del transposón EZ-Tn5<KAN-2> que transfiere un gen de resistencia al antibiótico kanamicina al DNA diana. Se realizó la siguiente mezcla de reacción: buffer de reacción EZ-Tn5 10X (1  $\mu$ l), DNA diana (0,2  $\mu$ g), transposón EZ-Tn5 <KAN-2> (x  $\mu$ l equivalente molar), agua estéril (para un volumen de reacción de 9  $\mu$ l) y transposasa EZ-Tn5 (1  $\mu$ l). Los pasos para realizar este ensayo fueron:

- a) Reacción de transposición haciendo la mezcla de reactivos y dejándola en incubación a 37°C durante un período de 2 horas.
- b) Electroporación de *E.coli*.
- c) Selección de clones resistentes a kanamicina

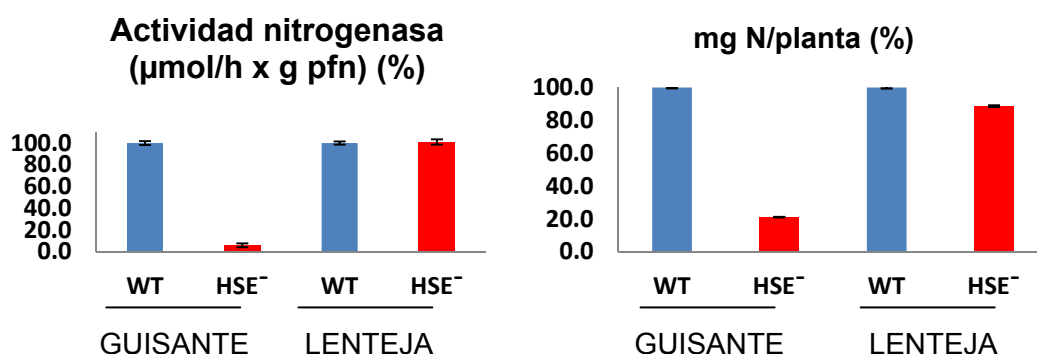




## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la caracterización del mutante  $Hse^-$  mediante el ensayo en plantas de guisante y lenteja obtuvimos tanto los datos de actividad nitrogenasa de los nódulos formados por *Rhizobium*, como el contenido de nitrógeno en la parte aérea de las plantas. Estos datos pueden observarse en la Figura 1. Los nódulos formados por el mutante en guisante mostraron una actividad nitrogenasa muy inferior a la de los nódulos de la cepa salvaje. Sin embargo, tal actividad fue similar en mutante y cepa silvestre en plantas de lenteja. Como cabía esperar, la acumulación de nitrógeno en la parte aérea de las plantas de guisante fue claramente inferior en aquellas noduladas por el mutante, no encontrándose diferencias en plantas de lenteja.

**Figura 1. Efectividad simbiótica del mutante UPM4239 y UPM1137 en *Pisum sativum* y *Lens culinaris*.**



Una vez realizada esta caracterización, se procedió a la identificación de la región *hse*. Se realizó en primer lugar una complementación del mutante UPM4239 transfiriendo al mismo la genoteca de *R/v* UPM791. Los transconjugantes obtenidos se inocularon “en masa” en plantas de guisante y se realizó un análisis de los nódulos efectivos, así como del perfil de restricción de los cósmidos obtenidos de las bacterias aisladas de dichos nódulos. La totalidad de las plantas tenían nódulos rojos en menor o mayor medida. Se escogieron nódulos con un buen tamaño y de coloración roja, es decir, con bacterias complementadas. Se observaron dos únicos tipos de perfiles de restricción en los cósmidos obtenidos de las bacterias de los nódulos efectivos analizados (Figura 2).

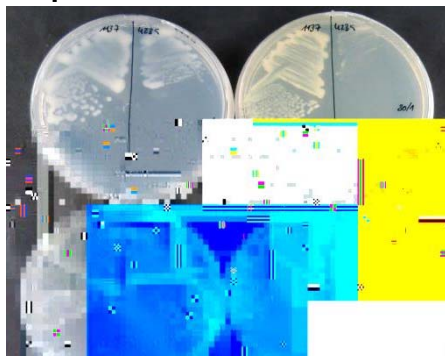
La complementación se aprovechó para estudiar el fenotipo del mutante relacionado con el crecimiento en medio rico TY (Figura 3). Se sembraron placas de medio YMB y TY con la cepa salvaje UPM1137, el mutante UPM4239, y bacterias aisladas de los nódulos efectivos. Se comprobó que todos crecían bien en medio YMB, pero en TY el mutante 4239 crecía con dificultad. Sin embargo las bacterias complementadas crecían en TY de igual forma que la cepa salvaje. Estos resultados sugieren que los genes responsables del fenotipo *Hse* y de la capacidad de crecimiento en TY se encuentran ligados en la cepa UPM791.

**Figura 2. Nódulos de plantas complementadas y perfiles de restricción de los cósmidos obtenidos de aislados de dichos nódulos.**





**Figura 3. Complementación para crecimiento en TY.**



Utilizando los cósmidos complementantes se procedió a realizar una mutagénesis in vitro utilizando el transposón EZ-Tn5 <KAN-2>. Los cósmidos con las inserciones se están secuenciando para determinar el punto de inserción en cada caso. Por el momento se han localizado siete inserciones dentro de una región de unas 20 kilobases, en el “scaffold” 0.1 del genoma de la cepa *R/v* 128C53. En esta región encontramos genes que previamente no se han estudiado como participantes del proceso de simbiosis, lo que puede ser de interés para ampliar el conocimiento sobre este proceso de gran importancia en agricultura.

### CONCLUSIONES

El mutante *R. leguminosarum* bv. *viciae* UPM 4239 presenta un comportamiento simbiótico diferente en asociación con distintas plantas del grupo de inoculación cruzada de esta especie (fenotipo Hse, host-specific symbiotic efficiency). El mismo mutante tiene un crecimiento deficiente en medios ricos (TY).

La complementación del mutante con una genoteca genómica *R/v* UPM791 ha permitido identificar una región de 20 kb implicada en el fenotipo simbiótico dependiente de hospedador. Además, la misma región genómica complementa al mutante para crecimiento en medios complejos como TY.

### AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer principalmente a mi tutor José Manuel Palacios, por haberme ayudado en todo momento y permitirme realizar este trabajo. También a Neyser de la Torre por su ayuda en la realización de los experimentos, así como a los demás componentes de mi laboratorio.

### BIBLIOGRAFÍA

- Brito, B., A. Toffanin, R. I. Prieto, J. Imperial, T. Ruiz-Argüeso, and J. M. Palacios. 2008. Host-dependent expression of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* hydrogenase is controlled at transcriptional and post-transcriptional levels in legume nodules. *Mol Plant Microbe Interact* 21:597-604.
- Brito, B., J. M. Palacios, E. Hidalgo, J. Imperial, and T. Ruiz-Argüeso. 1994. Nickel availability to pea (*Pisum sativum* L.) plants limits hydrogenase activity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* bacteroids by affecting the processing of the hydrogenase structural subunits. *J. Bacteriol.* 176:5297-5303.
- Ditta, G., S. Stanfield, D. Corbin, and D. R. Helinski. 1980. Broad host range DNA cloning system for Gram-negative bacteria: construction of a gene bank of *Rhizobium meliloti*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77:7347-7351.
- J. A. Downie, 2010. *FEMS Microbiol Rev.*, 34: 150-17.
- Fernandez, D., A. Toffanin, J. M. Palacios, T. Ruiz-Argüeso, and J. Imperial. 2005. Hydrogenase genes are uncommon and highly conserved in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *FEMS Microbiol Lett* 253:83-88.
- Rubio, L. 2014. Análisis molecular de sistemas génicos implicados en la homeostasis de níquel y eficiencia simbiótica en *Rhizobium leguminosarum*.



## MENOS ES MÁS, AQUÍ HAY TOMATE

Pérez Béjar, Susana<sup>1</sup>; Campos Fernández, Noelia<sup>2</sup>

Tutores: Correa Hernando, Eva Cristina<sup>1</sup>; Moya González, Adolfo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química y tecnología de los alimentos. ETSIAAB. Universidad Politécnica de Madrid.

<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Agroforestal. ETSIAAB. Universidad Politécnica de Madrid.  
susana.perez.bejar@gmail.com, noelia.campos.fernandez@gmail.com

### RESUMEN

El desperdicio de alimentos destinados a consumo humano a nivel mundial se estima en alrededor de un tercio de la producción total, aproximadamente (FAO 2012), lo que equivale a cerca de 1300 millones de toneladas al año. En Europa se calcula que las pérdidas y desperdicio de alimentos alcanzan aproximadamente 89 millones de toneladas de alimentos, de los cuales el 39% se producen en los procesos de fabricación (MAGRAMA 2014). El principal factor causante de estas pérdidas en la fase producción es la falta de coordinación entre los diferentes actores de la cadena de suministro (FAO 2012). El presente trabajo analiza el proceso de cosecha y transporte a fábrica del tomate destinado a la industria concentradora, identificando las causas de las pérdidas originadas y proponiendo soluciones para su control.

**Palabras clave:** sostenibilidad, mecanización, reducción de pérdidas.

### INTRODUCCIÓN

La reducción de las pérdidas y el desperdicio de alimentos se ha convertido en una prioridad, ya que según las estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas, en el año 2050 será necesario alimentar a una población de 9,6 billones de personas (UN 2013) Para ello, la producción de alimentos deberá aumentar un 70%, excluyendo los cultivos empleados en la producción de biocombustibles (FAO 2009). Es fundamental que buena parte de este imprescindible incremento se alcance a expensas de la reducción de pérdidas y desperdicio ya que estas acciones no suponen un impacto adicional sobre el área ocupada por tierras cultivadas, el consumo de energía o la huella de carbono.

En España desde el año 2013 se desarrolla la Estrategia “Más alimentos, menos desperdicio”, cuya finalidad es limitar las pérdidas y desperdicios para reducir su impacto ambiental de una manera organizada, coordinada y estructurada entre todos los agentes de la cadena de suministro de alimentos (MAGRAMA 2014).

Según FAO, la pérdida de alimentos es “*la disminución, en la cadena trófica, de la masa alimentaria comestible durante las etapas de producción, poscosecha, elaboración y distribución*” y el desperdicio alimentario es “*el descarte de alimentos aptos para el consumo, normalmente por obra del minorista y el consumidor, generalmente evitable*” (FAO 2012). La FAO distingue cinco fases en la cadena de suministro de productos básicos vegetales: producción agrícola, manejo poscosecha y almacenamiento, procesamiento, distribución y consumo. Este trabajo se centra en el estudio de las pérdidas en la fase de manejo poscosecha y almacenamiento del tomate para concentrado en la industria. En esta fase, la FAO identifica como principales causas de pérdidas los derrames y deterioros de productos (FAO 2012).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se llevó a cabo el análisis de los datos recogidos en una Tesis Doctoral (“Carga y transporte a granel del tomate para la elaboración de concentrados: factores que influyen sobre pérdidas de producto y de calidad y modelos para su estimación”, elaborada por Ángel Rodríguez del Rincón y dirigida por Margarita Ruiz Altisent en el año 1992) y se realizaron nuevos ensayos en campo. Los nuevos ensayos se llevaron a cabo en colaboración con la empresa AGRAZ, situada en Villafranco del Gadiana (Badajoz, Extremadura). En un primer ensayo se valoró el efecto del proceso de cosecha sobre las propiedades mecánicas de los tomates, para ello se



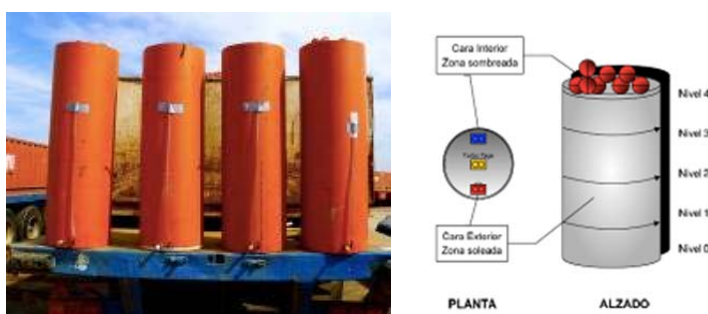
tomaron muestras de tomates de una misma finca y variedad (Guadivía) antes (10 frutos) y después (10 frutos) de su paso por la cosechadora. Se llevaron a cabo ensayos de compresión con bola y punción en un texturómetro (Tabla 1) y se realizó un análisis de varianza (ANOVA) empleando el software informático MATLAB® para verificar las diferencias existentes entre las distintas muestras.

**Tabla 1. Configuración de los ensayos de compresión con bola y punción**

| Ensayo                | Compresión con bola | Punción  |
|-----------------------|---------------------|----------|
| Velocidad             | 0,5 mm/s            | 0,5 mm/s |
| Distancia/Profundidad | 3 mm                | 5 mm     |

Un segundo ensayo se enfocó en caracterizar las condiciones a las que se somete al producto durante la espera en los contenedores desde su llegada a la fábrica hasta su entrada en la línea de producción y cuantificar las pérdidas de jugo que se producen en esta espera. Para ello se emplearon tubos de muestreo de PVC (Figura 1), específicamente diseñados para este ensayo, de 1,2 m de altura y 40 cm diámetro, llenados hasta rebose (imitando el llenado de los contenedores reales de transporte) con 87 kg de tomate. En el interior de los tubos entre la masa de tomates y a distintas alturas y posiciones diametrales se colocaron de 6 a 15 sensores de temperatura TurboTag por tubo (dependiendo del ensayo) modelo T-702B, capaces de almacenar 700 registros de temperatura con un intervalo de tiempo configurable. Unos orificios con tapón practicados en la parte inferior de los tubos permitió la recogida del jugo. La temperatura exterior (TExt) se registró mediante los mismos sensores de temperatura (TurboTag), situándolos en las plataformas donde se asentaban los tubos, por el lado soleado. Se llevaron a cabo tres ensayos de distinta duración y condiciones ambientales de temperatura (Tabla 2), con dos réplicas por ensayo.

**Figura 1. Tubos de muestreo durante los ensayos (izquierda) y esquema de la colocación de las TurboTag en el interior de los tubos (derecha).**



**Tabla 2. Descripción de los ensayos de monitorización de la temperatura.**

|                | Periodo de tiempo             | Número de tarjetas por réplica |
|----------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Ensayo 1_Tarde | 3 horas (14:00 h – 17:00 h )  | 15 y 14 respectivamente        |
| Ensayo 2_Tarde | 8 horas (14:10 h – 22:00 h )  | 13 y 14 respectivamente        |
| Ensayo 3_Noche | 14 horas (22:00 h – 11:00 h ) | 6 y 8 respectivamente          |



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 3 muestra la variación en las propiedades mecánicas de los tomates antes y después del proceso de cosecha (Figura 2).

**Tabla 3. Variación en las propiedades mecánicas de los tomates tras la cosecha (se muestra el resultado del análisis de varianza estadísticos  $F_{\text{Fisher}}$  y  $p$ ).**

|  | Tomate recogido de la mata | Tomate recogido del contenedor | F    | p     |
|--|----------------------------|--------------------------------|------|-------|
| Número de muestras                                   | 10                         | 10                             |      |       |
| Fuerza para deformación máxima (Compresión con bola) | 7,30 N                     | 4,81 N                         | 4,54 | 4,72% |
| Coeficiente fuerza/deformación (Punción)             | 1,29 N/mm                  | 0,86 N/mm                      | 4,51 | 4,77% |

La fuerza aplicada para la deformación máxima alcanzada en el ensayo de compresión con bola está relacionada con la firmeza del fruto. Durante el proceso de cosecha se produce una reducción media del 34% en este parámetro. El ANOVA realizado indica diferencias significativas ( $p < 5\%$ ) entre ambas muestras. La F de Fisher indica que el efecto del tratamiento sobre la firmeza del fruto es 4,54 veces el de la varianza existente entre los individuos dentro de cada muestra. El coeficiente fuerza/deformación del ensayo de punción está relacionado con la resistencia a la rotura del fruto. Durante el proceso de cosecha se produce una reducción media del 33% en este parámetro. El ANOVA realizado indica diferencias significativas ( $p < 5\%$ ) entre ambas muestras. La F de Fisher indica que el efecto del tratamiento es 4,51 veces el de la varianza existente entre los individuos dentro de cada muestra.

**Figura 2. Proceso de cosecha y descarga durante los ensayos realizados (izquierda) y contenedores cargados perdiendo jugo durante el tiempo de espera (derecha).**



**Tabla 4. Resultados de la monitorización de temperaturas y pérdida de jugo.**

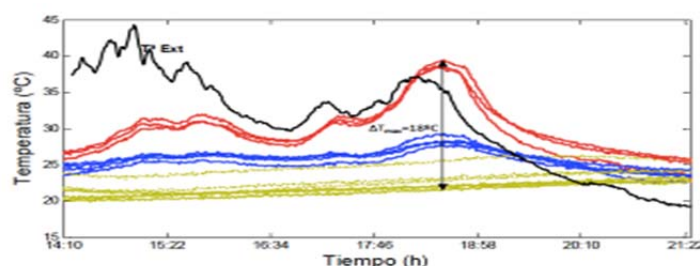
| Ensayo                                 | Duración (h) | TMedia (°C) | Tmín (°C) | Tmáx (°C) | Pérdida en peso (%) |
|--|--------------|-------------|-----------|-----------|---------------------|
| 1_Tarde                                | 3            | 26,29       | 19,85     | 36,55     | 0,87%               |
| 2_ tarde                               | 8            | 25,07       | 17,67     | 39,23     | 1,02%               |
| 3_Noche                                | 14           | 22,33       | 17,77     | 34,46     | 0,31%               |
| Referencia T <sub>ambiente</sub> Noche | 14           | 19,54       | 15,42     | 34,05     | -                   |
| Referencia T <sub>ambiente</sub> Tarde | 8            | 29,83       | 18,88     | 44,35     | -                   |





Los ensayos realizados (Tabla 4) con los tubos de muestreo indican que la combinación de tiempo y temperatura influye sobre la pérdida de jugo. El ensayo realizado durante la noche tiene la temperatura máxima más baja y es en el que se producen menos pérdidas en peso. Durante los ensayos de la tarde, en los que se registraron temperaturas más altas, aparecen mayores pérdidas de jugo. Las pérdidas en peso debido a la pérdida de jugo (Figura 2) llegan a suponer un 1% en estos ensayos. Debe tenerse en cuenta que las condiciones de temperatura durante los ensayos no fueron especialmente desfavorables por lo que este porcentaje podría incrementarse en otras condiciones ambientales. La manipulación posterior de los tomates (proceso de descarga y entrada en la industria) derivará en un incremento del porcentaje respecto al determinado en el ensayo. Otro de los efectos observados es la variabilidad de las temperaturas registradas para distintas posiciones (Figura 3) dentro de los tubos de muestreo registrándose variaciones de hasta 18°C. Estas diferencias se verán incrementadas en los contenedores reales, de mayor volumen, propiciando la presencia de gradientes de temperatura en un mismo contenedor y con ello distintas evoluciones en cuanto a parámetros mecánicos y de calidad de los tomates.

**Figura 3. Dinámica de las temperaturas en el interior de uno de los tubos (Tubo 3 durante el ensayo 2 (8h)).** En rojo las registradas más próximas al exterior por el lado soleado, en azul las más próximas al exterior por el lado sombreado y en amarillo las registradas en el centro del tubo.



## CONCLUSIONES

El estudio realizado indica que los impactos experimentados por los tomates durante el proceso de cosecha, el tiempo de espera, la temperatura y la compresión sufrida por el tomate cargado en los remolques son determinantes en cuanto a la pérdida de resistencia mecánica de los frutos y con ello en las pérdidas de producto durante su transporte y manipulación. Derivadas de los resultados del estudio se proponen las siguientes acciones de mejora para la reducción de pérdidas de producto:

- disminuir la altura de descarga del tomate de la cosechadora al camión o instalar elementos deceleradores para reducir los golpes sufridos por los tomates.
- evitar tiempos de espera prolongados entre la recolección y la descarga, especialmente cuando se produzcan elevadas temperaturas ambientales.
- determinar nuevos parámetros para la cuantificación de pérdidas entre la recolección y el procesado en fábrica de una forma precisa.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las empresas CHEP España y AGRAZ S.A.U. el soporte a las actividades recogidas en este trabajo mediante su colaboración en el marco del proyecto "Evaluación de la situación actual de los sistemas de gestión en transformación de tomate en cosecha y poscosecha. Reducción de residuos en la industria de transformación del tomate: análisis y recomendaciones" financiado por CHEP España.

## BIBLIOGRAFÍA

- FAO, 2009. Cómo alimentar al mundo en 2050. Foro de expertos de alto nivel. Roma 12-13 de octubre 2009.
- FAO, 2012. Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo – Alcance, causas y prevención. Roma.
- UN, Dep. of Economic and Social Affairs, Population Division (2013). World Population Prospects: The 2012 Revision, Key Findings and Advance Tables. Working Paper No. ESA/P/WP.227.
- MAGRAMA, 2014. Memoria de actividades del 2013 de la Estrategia "Más alimento, menos desperdicio". Madrid.



## EFFECTO DE LOS GRADOS DÍA DE AYUNO Y DEL HACINAMIENTO PREVIOS AL SACRIFICIO SOBRE EL CONTENIDO ESTOMACAL Y RESPUESTA DE ESTRÉS EN TRUCHA ARCOÍRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Bermejo-Poza, Rubén<sup>1</sup>; Angulo Cerezo, Raquel<sup>1</sup>

Tutores: Villarroel, Morris<sup>2</sup>; De la Fuente, Jesús<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

<sup>2</sup> Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Madrid.

rbermejop89@gmail.com

### RESUMEN

En acuicultura, el manejo pre-sacrificio incluye el ayuno, para asegurar el vaciado del aparato digestivo, y el hacinamiento y captura de los peces para su sacrificio. Para analizar el efecto de estos dos factores potencialmente estresantes, se contó con 144 truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) que fueron sometidas a un ayuno de 7 días (158,2 grados día) y a un hacinamiento en sus tanques de 20 minutos para compararlas después con los peces control (sin ayuno ni hacinamiento). El contenido estomacal, coeficiente de condición, índice hepatosomático y las concentraciones plasmáticas de cortisol, lactato y glucosa fueron menores en las truchas sometidas a ayuno. Por otro lado, el estrés por el hacinamiento incrementó los niveles plasmáticos de cortisol, lactato y glucosa, sugiriendo una disminución de su bienestar. En conclusión, un ayuno de hasta 150 grados día parece no tener un efecto negativo sobre la respuesta al estrés de la trucha arcoíris pero el hacinamiento previo al sacrificio fue estresante y sus efectos fueron independientes del estado de ayuno.

**Palabras clave:** ayuno, hacinamiento, bienestar animal

### INTRODUCCIÓN

El ayuno pre-sacrificio es una práctica rutinaria en acuicultura que se lleva a cabo para vaciar el aparato digestivo disminuyendo la cantidad de heces y previniendo una contaminación de la canal (Robb, 2008). Sin embargo, el ayuno puede también incrementar los niveles de estrés de los peces y si estos son lo suficientemente altos afectan a la calidad de la canal (Poli et al., 2005). Recientemente, algunos autores han analizado el efecto de un ayuno de corta duración (hasta tres días) sobre los indicadores plasmáticos de estrés en la trucha arcoíris (Hoseini et al., 2013), incluyendo el efecto de la temperatura del agua mediante los grados día (López-Luna et al., 2013) y su efecto sobre la calidad de la canal (López-Luna et al., 2014), encontrando todos que la trucha es capaz de adaptarse a un ayuno de ese tipo con valores similares de cortisol, lactato y glucosa en peces ayunados y no ayunados. Por otro lado, hay estudios que han demostrado que hay prácticas de manejo previas al sacrificio como la captura y el hacinamiento que provocan distintos grados de respuesta de estrés en los peces, incrementando los niveles de cortisol (Poli et al., 2005). En este trabajo se ha tratado de valorar el impacto del ayuno (158,2 °C día) y del hacinamiento pre-sacrificio en trucha arcoíris, así como el efecto conjunto de los dos, en el peso y distintos indicadores sanguíneos de bienestar como el cortisol, lactato, glucosa, triglicéridos y creatin fosfoquinasa (CPK).

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la Piscifactoría de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes (UPM, Madrid). Se dispuso de 4 tanques paralelos de 5,16 m<sup>3</sup> de capacidad que disponían de agua proveniente de pozo, proporcionando un flujo de agua constante. Se usaron 144 truchas arcoíris procedentes de la granja Cien Fuentes (Cifuentes, Guadalajara). Cuando las truchas llegaron a las instalaciones, se dividieron de forma aleatoria entre los cuatro tanques (n=36). Los animales se alimentaron dos veces al día con un pienso comercial (42% proteína bruta, 23% grasa, 4,1% cenizas y 2% fibra bruta, 30 ppm astaxantina; 1% tasa de alimentación). Para calcular los grados día (°C d),



se midió la temperatura del agua cada 5 minutos utilizando sensores de temperatura sumergibles en agua (Hobo®-U11). Los cuatro grupos formados tuvieron distintos tiempos de ayuno y hacinamiento previos al sacrificio. Dos grupos fueron sometidos a 7 días de ayuno antes del sacrificio (158,2 °C d) y los otros dos no ayunaron. Un grupo de cada tipo de tiempo de ayuno fue ejercitado 20 minutos antes del sacrificio persiguiendo a los peces con salabardos y utilizando una red de separación para agrupar a los peces en un espacio más pequeño. Como resultado, los peces quedaron divididos en cuatro grupos: NANH (ni ayuno ni hacinamiento), NAH (no ayuno, sí hacinamiento), ANH (sí ayuno, no hacinamiento) y AH (ayuno y hacinamiento). Se sacrificaron los peces, previo aturdimiento eléctrico, mediante decapitación. Inmediatamente tras el sacrificio, se tomaron las muestras sanguíneas de la vena caudal de 18 truchas de cada grupo dividiéndolas en dos eppendorf, uno con fluoruro de sodio (glucosa, lactato) y otro con EDTA (cortisol, triglicéridos y CPK). Ambos tubos se centrifugaron a 6.000 rpm durante 10 min para separar el plasma y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis. Para la determinación de la glucosa y el ión lactato se utilizaron métodos enzimáticos-espectrofotométricos (Spinreact, S.A., Sant Esteve de Bas, España), el cortisol mediante enzoinmunoanálisis con un kit comercial Cortisol (Radim Ibérica S.A., Barcelona, España), los triglicéridos con un método enzimático mediante un kit comercial (Boehringer Mannheim, Barcelona, España) y la CPK con un analizador químico Roche/Hitachi 717 (Roche Diagnostics, S.L., Sant Cugat del Valles, España). Tras la extracción de las muestras sanguíneas, los peces se midieron, pesaron y evisceraron. Se calculó el coeficiente de condición o CC ( $CC = \text{Peso sacrificio (g)} / \text{Longitud corporal}^3 \text{ (cm)}$ ). Se pesó el contenido estomacal para calcular el peso vivo vacío. El contenido estomacal se expresó como % relativo al peso del estómago. Se midieron también los pesos del aparato digestivo (de estómago a ano, incluyendo la grasa visceral) e hígado, expresándose como % relativo al peso vivo vacío (DSI: índice somático del digestivo, HSI: índice somático del hígado). El rendimiento a la canal se calculó como el cociente entre el peso al sacrificio y el peso canal, expresándose como porcentaje también. Los datos fueron analizados estadísticamente usando el procedimiento GLM del programa SAS 9.1. Para la comparación de medias se utilizó el test de Bonferroni con un 5% como nivel de significación ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El coeficiente de condición estuvo afectado por el tiempo de ayuno, siendo mayor en las truchas no ayunadas que en las sometidas a ayuno. Pottinger et al. (2003) observaron que a los 7 días de ayuno disminuye el CC en la trucha arcoíris. El contenido estomacal, DSI, HSI y rendimiento canal presentaron diferencias significativas respecto al ayuno pero no al hacinamiento (Tabla 1). El contenido estomacal y DSI fueron mayores en los peces que no ayunaron debido a la mayor cantidad de alimento en el tracto digestivo en el momento del sacrificio, lo que a su vez dio lugar a un menor rendimiento canal en las truchas que no ayunaron. Estos resultados coinciden con Lines y Spence (2012), quienes observaron que la duración del ayuno necesaria para vaciar el estómago varía de 1 a 5 días, dependiendo de la temperatura del agua. Las truchas que no ayunaron presentaron un mayor HSI que las sometidas a ayuno, posiblemente debido a una reducción de los niveles de glucógeno hepático y triglicéridos (Davis y Gaylord, 2011). Los resultados de los parámetros hematológicos se presentan en la Tabla 2. El cortisol aumentó en las truchas que no ayunaron, como observaron con anterioridad en trucha arcoíris Sumpter et al. (1991), y en las sometidas al hacinamiento, debido a una mayor respuesta al estrés (Poli et al., 2005). El lactato siguió el mismo esquema que el cortisol, aumentando en las truchas no ayunadas y en las sometidas al hacinamiento. Debido a un mayor movimiento previo al sacrificio en las truchas con hacinamiento, se pudo incrementar el metabolismo anaeróbico de las fibras musculares aumentando los niveles de lactato plasmático (Merkin et al., 2010). La disminución debida al ayuno pudo ser por un incremento de la utilización del lactato como sustrato en la gluconeogénesis hepática (Polakof et al., 2006). La concentración plasmática de glucosa fue mayor en las truchas sometidas al





hacinamiento que en las que no fueron hacinadas, debido a un incremento de la gluconeogénesis para mantener la homeostasis (López-Patiño et al., 2014). Los triglicéridos presentaron un valor más alto en las truchas no ayunadas que en las sometidas a ayuno, indicando que las reservas grasas se agotaron (Costas et al., 2011). Hubo una interacción significativa entre los dos factores en la CPK, con el valor más pequeño en el grupo ANH. Esto pudo ser atribuido a que los peces ayunados sufren una disminución de la síntesis enzimática debido a su menor demanda metabólica, aunque al ser sometidos al hacinamiento si fueron capaces de incrementar la actividad de esta enzima (Echevarría et al., 1997). Concluyendo, independientemente del tiempo de ayuno, parece esencial disminuir todo lo posible el tiempo de hacinamiento pre-sacrificio para preservar el bienestar de la trucha arcoíris.

**Tabla 1. Medias de coeficiente de condición (CC), contenido estomacal (CE), índices somáticos del digestivo (DSI) e hígado (HSI) y rendimiento canal (RC) expresados en porcentaje (excepto CC, sin unidades) y en función del tiempo de ayuno (A) y del hacinamiento (H).**

|            | NA                 |                    | A                  |                    | EEM <sup>1</sup> | Significación (p) |      |       |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|-------------------|------|-------|
|            | NH                 | H                  | NH                 | H                  |                  | A                 | H    | A x H |
| <b>n</b>   | 36                 | 36                 | 36                 | 36                 |                  |                   |      |       |
| <b>CC</b>  | 1,11 <sup>a</sup>  | 1,11 <sup>a</sup>  | 1,06 <sup>b</sup>  | 1,06 <sup>b</sup>  | 0,01             | 0,002             | 0,86 | 0,87  |
| <b>CE</b>  | 44,13 <sup>a</sup> | 48,15 <sup>a</sup> | 9,87 <sup>b</sup>  | 5,11 <sup>b</sup>  | 1,81             | <0,001            | 0,92 | 0,23  |
| <b>DSI</b> | 9,81 <sup>a</sup>  | 10,48 <sup>a</sup> | 7,35 <sup>b</sup>  | 6,94 <sup>b</sup>  | 0,16             | <0,001            | 0,70 | 0,11  |
| <b>HSI</b> | 1,56               | 1,52               | 1,42               | 1,50               | 0,02             | 0,04              | 0,58 | 0,11  |
| <b>RC</b>  | 88,33 <sup>b</sup> | 87,63 <sup>b</sup> | 90,92 <sup>a</sup> | 91,20 <sup>a</sup> | 0,17             | <0,001            | 0,55 | 0,17  |

<sup>1</sup> Error estándar de la media

a, b Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas (p < 0,05)

**Tabla 2. Medias de niveles plasmáticos de cortisol (Cort, ng/ml), lactato (Lact, mmol/l), glucosa (Gluc, mg/dl), triglicéridos (TGC, mg/dl) y creatin fosfoquinasa (CPK, U/l) en función del tiempo de ayuno (A) y del hacinamiento (H).**

|             | NA                 |                     | A                  |                     | EEM <sup>1</sup> | Significación (p) |        |       |
|-------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|------------------|-------------------|--------|-------|
|             | NH                 | H                   | NH                 | H                   |                  | A                 | H      | A x H |
| <b>n</b>    | 36                 | 36                  | 36                 | 36                  |                  |                   |        |       |
| <b>Cort</b> | 15,56 <sup>b</sup> | 25,37 <sup>a</sup>  | 10,12 <sup>c</sup> | 23,38 <sup>a</sup>  | 0,50             | 0,004             | <0,001 | 0,09  |
| <b>Lact</b> | 5,87 <sup>b</sup>  | 7,79 <sup>a</sup>   | 4,30 <sup>c</sup>  | 6,31 <sup>b</sup>   | 0,17             | <0,001            | <0,001 | 0,89  |
| <b>Gluc</b> | 78,39 <sup>b</sup> | 112,83 <sup>a</sup> | 71,89 <sup>b</sup> | 115,11 <sup>a</sup> | 1,96             | 0,59              | <0,001 | 0,27  |
| <b>TGC</b>  | 314 <sup>a</sup>   | 409 <sup>a</sup>    | 173 <sup>b</sup>   | 181 <sup>b</sup>    | 14,17            | <0,001            | 0,07   | 0,13  |
| <b>CPK</b>  | 825                | 702                 | 496                | 707                 | 79,07            | 0,09              | 0,33   | 0,09  |

<sup>1</sup> Error estándar de la media

a, b, c Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas (p < 0,05)



## CONCLUSIONES

Someter a la trucha arcoíris a un ayuno de 158,2 °C días disminuyó el coeficiente de condición y los niveles plasmáticos de triglicéridos pero parece ser que no fue tan estresante para los peces como los 20 minutos de hacinamiento previos al sacrificio, que incrementaron de manera significativa las concentraciones plasmáticas de cortisol, lactato y glucosa, lo que indica un efecto negativo del mismo sobre el bienestar animal. Concluyendo, independientemente del tiempo de ayuno, parece esencial disminuir todo lo posible el tiempo de hacinamiento pre-sacrificio para preservar el bienestar de la trucha arcoíris.

## AGRADECIMIENTOS

Esta prueba ha sido financiada por el proyecto AGL2010-19479. Nos gustaría agradecer a Carlos Diezma por su ayuda en el muestreo y los análisis laboratoriales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Costas B., Aragão C., Ruiz-Jarabo I., Vargas-Chacoff L., Arjona F.J., Dinis M.T., Mancera J.M., Conceição L.E. 2011. *Fish Physiol. Biochem.*, 37: 495-504.
- Davis K.B., Gaylord T.G. 2011. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 158: 30-36.
- Echevarría G., Martínezbebia M., Zamora S. 1997. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 118: 111-123.
- Hoseini S.M., Yousefi M., Rajabiesterabadi H., Paktinat M. 2013. *J. Appl. Ichthyol.*, 30: 569-573.
- Lines J.A., Spence J. 2012. *Fish Physiol. Biochem.*, 38: 153-162.
- López-Luna J., Vázquez L., Torrent F., Villarroel M. 2013. *Aquaculture*, 400: 142-147.
- López-Luna J., Torrent F., Villarroel M. 2014. *Aquaculture*, 420-421: 63-70.
- López-Patiño M.A., Hernández-Pérez J., Gesto M., Librán-Pérez M., Míguez J.M., Soengas J.L. 2014. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 168: 40-49.
- Merkin G.V., Roth B., Gjerstad C., Dahl-Paulsen E., Nortvedt R. 2010. *Aquaculture*, 309: 231-235.
- Polakof S., Arjona F.J., Sangiao-Alvarellos S., Míguez J.M., Martín Del Río M.P., Mancera J.M., Soengas J.L. 2006. *J. Comp. Physiol. B*, 176: 441-452.
- Poli B.M., Parisi G., Scappini F., Zampacavallo G. 2005. *Aquacult. Int.*, 13: 29-49.
- Pottinger T.G., Rand-Weaver M., Sumpter J.P. 2003. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 136: 403-417.
- Robb D.H.F. 2008. *Fish Welfare*: pp. 217-242.
- Sumpter J.P., Le Bail P.Y., Pickering A.D., Pottinger T.G., Carragher J.F. 1991. *Gen. Comp. Endocr.*, 83: 94-102.

## **SESIÓN P1**





## A NOVEL METHOD TO PREDICT FUNCTIONAL GENES INVOLVED IN ABIOTIC STRESS REGULATION, USING DATASETS FROM WEB REPOSITORIES

Gómez Páez, Marcela<sup>1</sup>; Zanin, Massimiliano<sup>2</sup>

Tutors: Medina Alcázar, Joaquín<sup>3</sup>; Vicente-Carbajosa, Jesús<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

<sup>2</sup>Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid

<sup>3</sup>Departamento de Biotecnología. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria- INIA  
marcela.gomez.paez@upm.es

### ABSTRACT

A novel predictive method based on network representation techniques is proposed to identify candidate genes involved in the response to osmotic stress in *Arabidopsis*. Several data sets of gene expression levels have been studied by means of different techniques, including co-expression networks and differential-expression analyses, but here we introduce the *parenclitic* network method, which focuses on pairs of genes whose expressions depart from a reference model, allowing to detect differences. To test the obtained predictions, we performed an *in vivo* experiment where the candidate genes were artificially induced in *Arabidopsis* transgenic plants, and were analyzed under osmotic stress conditions. We describe the relevance of the proposed approach in the identification of key functional elements in gene reprogramming, and compare our method with the standard ones. The *parenclitic* method and the experimental procedures helped to identify 15 previously unknown genes regulating the response to osmotic stress in *Arabidopsis thaliana*.

**Keywords:** *Abiotic stress, Arabidopsis, Parenclitic method, Predictive networks*

### INTRODUCTION

In recent years, several computational approaches have been developed to process and obtain information from a wide range of data sets that are being continuously updated in biological research. Some of them have been focused on predictive methods to identify relevant elements among big data groups and represent multi-unit systems within complex networks (Bray, 2002; Bassel *et al.*, 2012).

In this study, we introduce a novel way to represent as networked systems, data collections of isolated, possibly heterogeneous and scalar data sets. The main technique allows to identify relationships among pre-labeled subjects that are apparently unconnected, taking into account reference models obtained from predefined sets, which favor the establishment of comparisons and create networks, where nodes represent features and links are weighted according to the deviation between the values of two features, and their corresponding typical relationship within a studied population. The whole method is detailed below.

This approach, which we have termed a *parenclitic* network representation, uses information from pre-labeled subjects to unveil the presence of reference relationships between nodes. The starting point is a multi-feature description of subjects, e.g. a collection of phenotypical measurements or gene expression levels, and their affiliation to one or multiple predefined groups. While it may not be feasible to work with the complete data set, we consider the projection of the data into all possible planes created by pairs of features. In these planes, different methods (from simple linear correlations, up to more sophisticated data mining techniques) are used to extract a reference model for each group, accounting for the characteristics of subjects. When a new unlabeled subject is considered, the deviation between the associated data and such reference models is used to weigh the link among the corresponding nodes. Likewise, the general mathematical framework introduced here is compatible with any type of relationship and any data set, as



long as features (*i.e.* observables) are represented by numbers, while the original technique only focused on linear relations between genetic expression levels.

Our results show the application of the parenclitic network representation to (I) a synthetic data set and (II) *Arabidopsis thaliana* gene expression data. Of the wide range of transcriptomic analyses that have been performed in *Arabidopsis*, we selected a subset aimed at the characterization of gene expression responses under osmotic stress conditions, and then display the relevance of the proposed approach in the identification of key functional elements in gene reprogramming.

## MATERIALS AND METHODS

The parenclitic network method was developed as described by Zanin *et al.* (2014). This reconstruction method was used to identify those genes possibly involved in the response of the *Arabidopsis thaliana* plant to abiotic stresses.

### **Representation of abiotic stress response in *Arabidopsis***

First, a data set of the *AtGenExpress project* was analyzed. This included the expression levels of 22.620 genes under 8 different abiotic stresses (*i.e.* cold, heat, drought, osmotic, salt, wounding and UV-B light) and at six different time periods (30min, 1h, 3h, 6h, 12h and 24h after the onset of stress treatment). Among them, only osmotic stress was considered and the analysis was limited to the 1.922 genes composing the transcription factors of *Arabidopsis* represented in the ATH1 array. The objective of the study was the creation of a network representing the genes with an abnormal expression at each time step. The mathematical analyses were developed by Zanin *et al.* (2014).

#### **Synthetic data analysis**

Before being applied to the *Arabidopsis* data set, the proposed methodology was tested with *in-silico* generated information, with the additional aim of providing another example on how the method works. This synthetic data included 10 instances, each one equivalent to the set of expression levels at one time step, and 20 features. By means of this analysis we were able to verify whether an abnormal behavior was correctly represented in the resulting parenclitic networks.

#### ***Arabidopsis* network analysis**

The aim of the analysis was to identify the most central nodes (*i.e.* genes) within each of the six parenclitic networks. When a node is strongly central, indeed, it is highly connected, and therefore it is part of a group of many features that deviate pairwise from the expected models.

Due to the characteristics of the network, we selected the  $\alpha$ -centrality measure, according to which the centrality of a node is a linear combination of the centralities of those to whom it is connected (Bonacich & Lloyd, 2001).

#### **Osmotic stress tolerance test**

For the screening of the transcription factors identified by the parenclitic model, we used the *Arabidopsis thaliana* inducible lines from the *Transplanta* collection (Transplanta 2011), with the ecotype Columbia (Col-0) as the wild-type. Each one of the transgenic *Arabidopsis* lines of the collection expresses a single *Arabidopsis* transcription factor under the control of the  $\beta$ -estradiol inducible promoter.

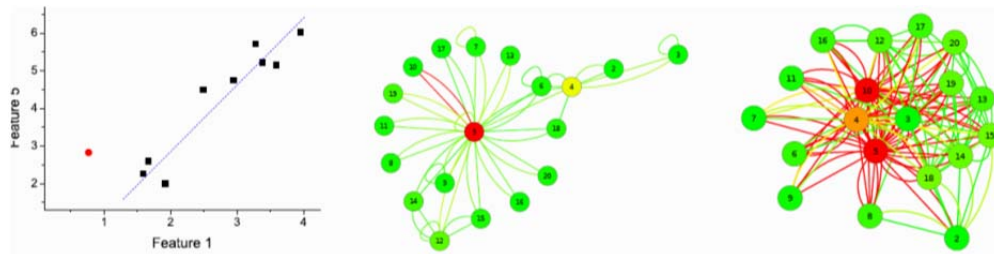
For carrying out the osmotic stress screening, seeds from control plants (Col-0) and at least two independent T3 homozygous transgenic lines (Transplanta collection) of each transcription factor were sterilized, vernalized for 2 days at 4°C and plated onto Petri dishes containing ½MS medium (M0231; Duchefa-Biochemie) supplemented with 10µM  $\beta$ -estradiol. After 5 days, seedlings were transferred to vertical plates containing ½MS medium supplemented with 300mM Mannitol, 10µM  $\beta$ -estradiol and transferred to a growth chamber at 22°C under long-day growth conditions (16/8h light/darkness). After 12 days, pictures were taken to record the phenotypes, and root elongation measurements were performed with the ImageJ software (Abràmoff *et al.*, 2004).



## RESULTS AND DISCUSSION

Initially, we tested the parenclitic method's reliability, analyzing a synthetic data set that comprised 20 instances (corresponding to sets of expression levels) and 10 features - see Methods for more details. Figure 1 displays the results obtained with this synthetic data set. The left graph depicts the behavior of features 1 and 5, for the 9 normal instances (black squares) and the abnormal one (red circle). Due to the modification of feature 5 for instance 10, the red circle deviates from the expected normal behavior (blue dashed line). The two networks, on the central and right part of Figure 1, respectively, represent the result of the parenclitic reconstruction technique for instances 1 and 10, *i.e.* for the normal and the abnormal one. Two important facts have to be highlighted. First, the network corresponding to the normal instance has a much lower link density than the abnormal one, correctly indicating that most pairwise gene relationships are close to the model prediction. Furthermore, the most central elements in the abnormal network are nodes 5 and 10, highlighting the two features that have been altered. Overall, this result indicates that the parenclitic method correctly identifies both discordance nodes.

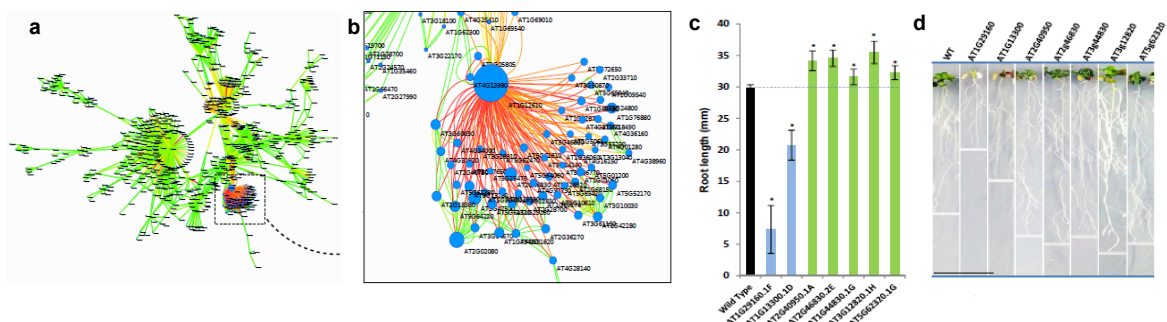
**Figure 1. Parenclitic network reconstruction of a synthetic data set**



Moreover, we used parenclitic networks to analyze the gene expression of *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress, for identifying those genes regulating the plant response under this specific condition. For this objective, we obtained the expression levels from the *AtGenExpress project* (Seki *et al.*, 2002), including information about the 1701 genes encompassing the transcription factor repertoire (Klok *et al.*, 2002) represented in the *Arabidopsis* ATH1 array used in the study at six different time points (30min, 1h, 3h, 6h, 12h and 24h after stress onset).

Among all obtained networks, we display a representative example in Figure 2 (a-b). The giant component of the network corresponding to 3h after osmotic treatment was depicted in Figure 2a. The color of links accounts for their weights, with green (red) shades indicating low (high) Z-Scores, and the size of nodes is proportional to their  $\alpha$ -centrality (Bonacich & Lloyd, 2001). The resulting network topologies are characterized by a highly heterogeneous structure, dominated by a small number of *hubs*- as can be appreciated from the zoom presented in Figure 2b. Such nodes with high centrality indicate that, at 3h, the expression levels of the corresponding genes strongly deviate from the relationships generally established at other times. This suggests that hubs are performing some specific task at this time point, and therefore that they are key elements in regulating the overall plant response to that particular stress. By means of parenclitic networks, we identified novel candidate genes that were either previously unknown or were not considered to be related to the osmotic stress response.

**Figure 2. Parenclitic network for the osmotic stress response of *A. thaliana* after 3 h and *in vivo* experimental verification of the predictions**





To verify the obtained predictions, we performed an *in vivo* screening, in which genes corresponding to the most central nodes of each graph were artificially induced in transgenic plants, and the derived phenotype after a stress response was monitored in a typical assay by measuring the root length of each plant - see Methods. As an example, Figure 2 (c-d) reports the results obtained with seven transgenic lines, *i.e.* seven groups of plants in which the expression of one gene, corresponding to a parenclitic hub, was artificially induced. Specifically, Figure 2c shows the means of root length for the seven lines, as compared to the normal root length in the wild type (black column) grown under osmotic stress conditions. Besides, representative phenotypes of these lines at the end of the experiment are shown in Figure 2d. This unveils that in all the seven examples, the induction of the corresponding gene leads to a significant functional response in the plant development.

## CONCLUSIONS

- We described a new network reconstruction method to predict functional relationships among genes by identifying the most central nodes.
- We applied the parenclitic method to detect key transcription factors in response to osmotic stress and evaluated their role in transgenic plants transformed with these genes under the control of a  $\beta$ -estradiol inducible promoter.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants from Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), the Spanish Ministry of Science and Innovation and the MERIT Project (FP7 ITN2010-264474). The authors also acknowledge the computational resources and assistance provided by the Centro Computazionale di RicErca sui Sistemi Complessi (CRESCO) of the Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development (ENEA).

## REFERENCES

- Abràmoff MD., Magalhães PJ., Ram SJ. 2004. Image processing with ImageJ. *Biophotonics Intern.*, 11: 36–42.
- Bassel GW., Gaudinier A., Brady SM., Hennig L., Rhee SY., De Smet I. 2012. Systems analysis of plant functional, transcriptional, physical interaction, and metabolic networks. *The Plant Cell*, 24: 3859–3875.
- Bonacich P., & Lloyd P. 2001. Eigenvector-like measures of centrality for asymmetric relations. *Soc. Networks*, 23: 191–201.
- Bray EA., 2002. Classification of genes differentially expressed during water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*: an analysis using microarray and differential expression data. *Annals of Botany*, 89: 803–811.
- Klok EJ., Wilson IW., Wilson D., Chapman SC., Ewing RM., Somerville SC., Peacock WJ., Dolferus R., Dennis ES. 2002. Expression profile analysis of the low-oxygen response in *Arabidopsis* root cultures. *The Plant Cell Online*, 14: 2481–2494.
- Seki M., Narusaka M., Ishida J., Nanjo T., Fujita M., Oono Y., Kamiya A., Nakajima M., Enju A., Sakurai T., Satou M., Akiyama K., Taji T., Yamaguchi-Shinozaki K., Carninci P., Kawai J., Hayashizaki Y., Shinozaki K. 2002. Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal*, 31: 279–292.
- Transplanta collection, [http://bioinfogp.cnb.csic.es/transplanta\\_dev/](http://bioinfogp.cnb.csic.es/transplanta_dev/). Accessed on 5th August 2011.
- Zanin M., Medina-Alcázar J., Vicente-Carbajosa J., Gómez-Páez M., Papo D., Sousa P., Menasalvas E., Boccaletti S. 2014. *Parenclitic* networks: uncovering new functions in biological data. *Scientific Reports*, 4: 5112.





## LA HENNA, UNA PLANTA TINTÓREA

Cosme López, Eduardo

Tutores: Mendiola Ubillos, María Ángeles; Aguado Cortijo, Pedro Luis

*Departamento de Producción Vegetal: Botánica y Protección Vegetal. E.T.S.I. Agrónomos.*

*Universidad Politécnica de Madrid*

*e.cosme@alumnos.upm.es*

La henna, *Lawsonia inermis* L., es una planta tintórea de la familia *Lythraceae*, también llamada alheña o arjeña. Es un arbusto perenne originario de la región comprendida entre Irán y la India noroccidental que se cultiva en los trópicos y subtropicos libres de heladas. Es una especie de gran interés económico para los países productores, generalmente países en vías de desarrollo, pues su exportación es una importante fuente de divisas. De sus hojas se extrae un pigmento con importantes aplicaciones tanto para su aplicación como tinte natural en el cabello, la piel y otros materiales, como para usos cosméticos. El arte de decorar con henna se practica en el Norte de África, en Oriente Medio, en el Sur de Asia y Europa, y ha sido utilizado por numerosos países y civilizaciones como hindúes, sijs, judíos o musulmanes.

**Palabras clave:** *Lawsonia inermis*, Henna, tinte natural.

### INTRODUCCIÓN

La especie *Lawsonia inermis* L., conocida como henna, es una planta con muy poca distribución como tal en Europa, aunque es bastante utilizada tanto en países asiáticos como países de Oriente Medio. El interés de esta especie se basa en el colorante que se extrae de sus hojas, que actúa de tinte para diversos materiales como pueden ser cuero, ropa o pelo, aunque su uso más extendido es la decoración de la piel con formas, del color del propio tinte. Es una planta poco seleccionada genéticamente y se cultiva en países en vías de desarrollo, por lo que no hay una industria muy tecnificada detrás de su cultivo, aunque es un importante factor de desarrollo dentro de estos países. En esta revisión bibliográfica se tratará sobre el origen y su historia a través de los siglos, el cultivo y las aplicaciones de esta planta.

### ORIGEN, HISTORIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA ESPECIE

El origen de la especie de *Lawsonia inermis* L. es incierto. Hay indicios que revelan que la planta de henna procede de la franja que se extiende de Irán hasta el oeste de la India, zona donde se pueden encontrar en estado natural. A partir de ese lugar se extendió por la toda la India e Indonesia y hacia Oriente medio, donde la cultura islámica la incluyó como una planta muy importante dentro de su cultura (PROTA, 2005).

Como tinte, es muy complejo identificar el origen exacto de la henna, dados los muchos siglos de interacción cultural y comercio entre los diferentes países (Cronicasarabes, 2009). El arte de la decoración con henna se practica en el Norte de África, en Oriente Medio, Sur de Asia y Europa, y ha sido muy utilizada por numerosas culturas.

De todos modos los historiadores argumentan que la henna ha sido aprovechada durante al menos 5000 años en cosmética y salud. Algunas búsquedas argumentan que el uso de la henna se originó en la antigua India (Cronicasarabes, 2009), mientras que otros datos reivindican que fue llevada a la India por los egipcios en el siglo XII (Cronicasarabes, 2009).

### DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Se trata de una especie semileñosa (Sánchez-Monge y Parellada, 1981) perenne, glabra, esbelta y muy ramificada (ver Imagen 1a). Puede alcanzar de 2 a 6 metros



de altura en condiciones favorables. Presenta una corteza entera de un color marrón grisáceo (Ecocrop, 2007).

Posee hojas de color verde oscuro las cuales son opuestas, simples, enteras, ovales-agudas y oblongas. El ancho de las hojas mide alrededor de 2 cm y la longitud puede alcanzar los 5 cm (Ecocrop, 2007).

Las flores son pequeñas y de color cremoso, blanco o amarillo, y desprenden un aroma dulzón (ver Imagen 1b). Tienen 4 pétalos y 4 sépalos. En los países del Mediterráneo meridional y occidental, las flores de henna se abren en los meses de abril y mayo (Cartwright-Jones, 2005).

Sus frutos (ver Imagen 1c) son cápsulas globulosas que llegan a medir hasta 7 cm de diámetro y en su interior contienen 4 celdillas con numerosas semillas que varían de 40 a 45 (Cartwright-Jones, 2005). Estas cápsulas se abren al final de la fructificación. Los frutos de henna maduran al final del verano. Las semillas de henna son pequeñas, de color marrón y triangulares, y pueden tener un tamaño de 1 a 2 milímetros.

La henna crece en zonas donde las temperaturas mínimas no bajan de 11°C, tolerando el calor excesivo y los periodos largos de sequía. El pH óptimo del sustrato varía entre 4,3 y 8,0. (Cartwright-Jones, 2005).

**Imagen 1. Detalles de la henna**  
**a) porte; b) flores y hojas; c) frutos de la henna**



Fuente: <http://goo.gl/JrIV9H>, <http://goo.gl/MmtQ05>, <http://goo.gl/8pTd0v>

### **IMPORTANCIA ECONÓMICA Y DISTRIBUCIÓN MUNDIAL**

Debido a que se producen grandes cantidades de henna para uso local en los lugares donde se cultiva (PROTA, 2005), y ya que la henna se incluye dentro de las clasificaciones de exportación-importación que agrupan varios productos (FAO, 1995), es muy complicado obtener estimaciones precisas de la producción. Ciertas estimaciones ofrecen un dato de comercio próximo a 9000 y 10000 toneladas de hoja seca de henna al año (FAO, 1995) estimado a partir de los datos de los principales exportadores e importadores.

Entre los principales productores, destacan en primer lugar India con unas exportaciones que fluctúan entre 4500 y 7600 toneladas en la década de los años 80 y 90 y en segundo lugar tenemos a Sudán con unas 1000 toneladas exportadas en ese mismo periodo (FAO, 1995). Como exportadores también importantes tenemos a Pakistán, Irán y Egipto.

Los precios mundiales en 1992 fluctuaron entre 250 y 700 dólares por tonelada, dependiendo en gran medida de la calidad y la oferta total (PROTA, 2005), ya que la henna negra adquiere el doble del valor de la henna roja. La demanda de henna aumentó rápidamente entre 1960 y 1980, pero desde entonces se ha estabilizado.



Entre los principales importadores se puede destacar a Arabia Saudí con 3000 toneladas por año y Dubai con 900 toneladas por año. En Europa sobresalen Francia con 250 toneladas por año y Gran Bretaña con 100 toneladas por año (PROTA, 2005). Por último resaltar que Estados Unidos importa varios cientos de toneladas por año.

Tradicionalmente Níger tiene un enlace de exportación con Argelia y Yemen con Arabia Saudí. (FAO, 1995).

### **INTERÉS DE LA ESPECIE Y APLICACIONES**

La extracción acuosa de la hoja seca proporciona un colorante que puede variar en color desde el negro, el rojo pasando hasta el amarillo.

El pigmento principal en la hoja de henna es la lawsona (2-hidroxi-1,4-naphthaquinona) (FAO, 1995). Esta molécula se fija firmemente a la proteína y, en consecuencia, tiene propiedades de teñido rápido. Puede existir una alta variabilidad en el contenido del pigmento de una muestra de hojas secas, cuya media oscila entre el 1 y 2% (FAO, 1995), y es un dato muy importante si la producción está destinada a las aplicaciones cosméticas, ya que variará el tono de color que proporciona al producto.

La henna se ha empleado en India en la decoración de la piel de las manos y los pies (Imagen 2). Este uso se hizo popular por las la propiedad que tiene de refrescar en las duras condiciones del clima indio (Chaudhary et al., 2010). La henna se ha utilizado comúnmente como base para tintes para el pelo. Presenta diferentes tonos de color dependiendo de los aditivos que se añadan o combinándolo con otros tintes: de rubio rojizo, pasando por un castaño oscuro hasta un negro (PROTA, 2005). Las hojas también se utilizan para aliviar la ictericia, enfermedades de la piel, enfermedades venéreas, la viruela y espermatorrea. (Chaudhary et al., 2010).

Un uso es el del aceite esencial que se puede extraer de sus flores, que como hemos resaltado antes son muy aromáticas (Sánchez-Monge, 1981). La decocción de las flores es un método eficaz para aliviar los moretones (Chaudhary et al., 2010).

La corteza de este arbusto tiene propiedades medicinales (Sánchez-Monge y Parellada, 1981). Se aplica a modo de decocción para quemaduras y escaldaduras. La administración interna de esta decocción se usa para las afecciones como la ictericia, la hinchazón del bazo, los cálculos y como una posible alternativa de cura de la lepra, así como otras enfermedades de la piel. (Chaudhary et al., 2010).

Las semillas pueden ser utilizadas como desodorante. Si éstas son mezcladas con mantequilla se considera un buen método para curar la disentería (Chaudhary et al., 2010).

La raíz de la henna se ha utilizado como un remedio eficaz para infecciones como la gonorrea o el herpes. La raíz despulpada se utiliza como una ayuda para aliviar el dolor de ojos y para los forúnculos de las cabezas de los niños (Chaudhary et al., 2010).

La planta de henna se puede emplear también como ornamental (López, 2001), como barrera natural, así como para controlar la erosión del suelo (Ecocrop, 2007).



## Imagen 2. Aplicación de la henna en tinte y como decoración de la piel.



Fuente: <http://goo.gl/LCvaVD>, <http://static.panoramio.com/photos/large/63098895.jpg>

## CONCLUSIONES

Se presenta y describe una planta de origen asiático, que tiene importancia económica en países donde se cultiva, que normalmente son países en vías de desarrollo. Las aplicaciones como pueden ser decorar el cuerpo o teñir el pelo, que en un principio partieron de Asia y el medio oriente, cada vez tiene más peso en la cultura occidental debido a su propiedad de ser un tinte natural, aunque su uso como planta medicinal no se ha extendido.

### Agradecimientos

A María Ángeles Mendiola por brindarme la oportunidad de presentar este trabajo en el congreso de estudiantes.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cartwright-Jones, 2005. <http://www.hennapage.com/henna/encyclopedia/growing/>, consulta 5 de Marzo de 2014.
- Chaudhary et al., 2010. Chaudhary G., Goyal S., Poonia P., Lawsonia inermis Linnaeus: a phytopharmacological Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 2010; 2(2): 91-98.
- Cronicasarabes, 2009. <http://goo.gl/uK1cku>, última consulta 5 de Marzo de 2014.
- Ecocrop, 2007. <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=1334>, última consulta 5 de Marzo de 2014.
- FAO, 1995. <http://www.fao.org/docrep/v8879e/v8879e04.htm>, última consulta 5 de Marzo de 2014.
- López, 2001. López González G., 2001. Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares. Tomo I. Ed. Mundi Prensa. p.854.
- Prota, 2005. [http://database.prota.org/PROTAhtml/Lawsonia%20inermis\\_En.htm](http://database.prota.org/PROTAhtml/Lawsonia%20inermis_En.htm), consulta 5 de Marzo de 2014.
- Sánchez-Monge y Parellada, 1981. Sánchez-Monge y Parellada E., 1981. Diccionario de plantas agrícolas. Servicio de publicaciones agrarias. Ministerio de agricultura. p. 168.
- <http://goo.gl/JrIV9H>, última consulta 5 de marzo de 2014.
- <http://goo.gl/MmtQ05>, última consulta 5 de marzo de 2014.
- <http://goo.gl/8pTd0v>, última consulta 5 de marzo de 2014.
- <http://goo.gl/LCvaVD>, última consulta 5 de marzo de 2014.
- <http://static.panoramio.com/photos/large/63098895.jpg>, última consulta 5 de marzo de 2014.



## LAS EGAGRÓPILAS, FORMACIÓN E IDENTIFICACIÓN

Moreno Cerero, Diego<sup>1</sup>; Mora Valls, Paula<sup>1</sup>

Tutor: Alvir Morencos, María<sup>2</sup>

<sup>1</sup>E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid

<sup>2</sup>Departamento de Producción Agraria, E. T. S. I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid;  
Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid

d.morenoc@alumnos.upm.es, paula.mora.valls@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Se denominan egagrópilas a las regurgitaciones producidas por la imposibilidad que tienen las aves rapaces o de presa de digerir y absorber parte de las estructuras que ingieren al tragar a sus presas enteras. Son estructuras que, si recorrieran todo el tubo digestivo, lo dañarían ocasionando un perjuicio importante al ave, por lo que son expulsadas antes de que el resto del alimento pase al intestino.

**Palabras clave:** *Regurgitaciones, Rapaces, Roedores.*

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El enfoque de este trabajo tiene una doble finalidad, por un lado explicar cómo se forman las egagrópilas, por qué y en qué animales se puede observar este proceso. Por otro lado, recoger y estudiar algunas muestras de egagrópilas y, a partir de su descomposición tratar de identificar a qué especie pertenece y sacar, si fuera posible, ciertas conclusiones acerca de la alimentación de dicho animal.

### ¿QUÉ SON LAS EGAGRÓPILAS?

Entre las aves, podemos encontrar muy diversos hábitos alimenticios: las hay insectívoras, carnívoras, granívoras, etc. En el presente trabajo nos vamos a centrar en el estudio de las aves carnívoras no carroñeras, también denominadas aves de presa o rapaces. Son aves que se alimentan de animales que cazan. Matan a sus presas con su afilado pico y garras. Estas aves, a diferencia de las aves carroñeras, que con sus garras desgarran la carne para ingerirla, ingieren sus presas enteras o casi enteras, sin despiezarlas ni separar carne de los huesos ni la piel. Evidentemente sus presas son animales de pequeño tamaño, tales como roedores. En la Figura 1 podemos encontrar un cárabo (*Strix aluco*), rapaz común de hábitos nocturnos, expulsando una egagrópila.

**Figura 2. Cárabo (*Strix aluco*) expulsando una egagrópila.**



El aparato digestivo de dichas aves no está preparado para la digestión de todas y cada una de las partes de un organismo entero, por lo que las aves con el tipo





de alimentación mencionado (aves de presa o rapaces) han desarrollado ciertas adaptaciones para solventar este problema.

Las partes de las presas que más comúnmente no pueden digerir dichas aves son los huesos, pelos, plumas, etc. Principalmente porque los jugos gástricos no son capaces de descomponer los materiales de las que están compuestas. No sería tampoco beneficioso para las aves el hecho de que estos materiales pasasen por el tubo digestivo, puesto que muchos de ellos tienen estructuras cortantes que podrían dañar el epitelio interno.

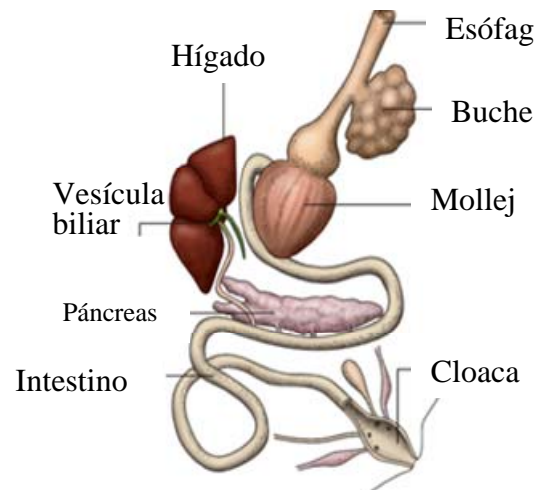
En el aparato digestivo de las aves, podemos encontrar dos partes que diferencian dicho aparato digestivo del de otros animales: el buche y la molleja. En la Figura 2 se puede observar un esquema con dichas partes. El buche es un ensanchamiento del esófago que permite el almacenamiento del alimento antes de ser digerido. Particularmente, la mayoría de las aves rapaces nocturnas carecen de esta estructura y, en consecuencia, el alimento pasa menor tiempo en el tracto digestivo (Jáñez F., 2012). La molleja, denominada también “estómago muscular”, es donde el alimento se tritura gracias a sus fuertes contracciones. A partir de aquí, el alimento pasa al duodeno y al resto del intestino. Además, en la molleja no sólo se tritura alimento, sino que se separa la parte digerible de la que no va a poder ser digerida ni descompuesta por los jugos gástricos. Estos materiales indigeribles se quedan en la molleja impidiendo que el ave pueda volver a ingerir más alimento, y el avance de éste hacia tramos posteriores del tubo digestivo. Por tanto, es necesario expulsar estos restos para seguir alimentándose.

Es entonces, cuando las adaptaciones de las aves rapaces hacen posible, mediante movimientos antiperistálticos del tubo digestivo, que este bolo formado por restos no digeribles, sea regurgitado y expulsado al exterior. Esta reacción es estimulada por la acidez que produce la ausencia de alimento, y especialmente por la ausencia de proteínas y grasas. Esta bola regurgitada es la denominada egagrópila.

### **DIFERENCIAS EN FUNCIÓN DE LA ESPECIE Y SU COMPORTAMIENTO**

Hay diferencias entre las egagrópilas de las aves rapaces diurnas y nocturnas. En las rapaces diurnas, el pH de los jugos gástricos es más ácido, aproximadamente de 1,5, mientras que en las nocturnas es ligeramente más básico, de 2,5. Ésta es la razón por la que se encuentran más huesos en las rapaces nocturnas (Brown y Ferguson, 2003). Dentro de cada grupo, también hay diferencias según el ave sea joven o adulta; Las jóvenes suelen tener jugos gástricos más ácidos. Una rapaz produce alrededor de una o dos egagrópilas diarias según el tamaño de las presas que haya ingerido. También se ha observado que las rapaces nocturnas,

**Figura 3. Esquema del aparato digestivo de un ave.**





en general, expulsan una egagrópila después de cada alimento ingerido, mientras que las diurnas pueden acumular restos no digeridos durante más de una ingesta antes de expulsar la correspondiente egagrópila (Mikkola, 1995). Además, cada tipo de ave produce un tipo de egagrópila distinta dependiendo del alimento que ingiera.

En los búhos (*Bubo bubo*) y lechuzas (*Tyto alba*), dado que tragan sus presas más o menos enteras y el jugo gástrico es más básico, los huesos y otras partes duras, como plumas y exoesqueletos de insectos, permanecen intactos. En consecuencia, la identificación de los restos de su alimentación es más fácil. Todas las demás aves depredadoras producen egagrópilas, si bien con restos más fragmentados. Las garzas (*Ardea cinerea*), los alcaudones (*Lanius senator*) y los martines pescadores (*Alcedo atthis*) producen egagrópilas de color y textura distintivas, mientras que las de los córvidos y gaviotas varían según la dieta (Brown y Ferguson, 2003). Las egagrópilas de aves limícolas, que viven en zonas húmedas de costas y riberas, están formadas principalmente por partes duras de invertebrados marinos. Algunas aves pequeñas y omnívoras también forman egagrópilas, éstas son más difíciles de identificar y en algunos casos se pueden confundir con excrementos.

### **¿CÓMO DIFERENCIAR LAS EGAGRÓPILAS DE LOS EXCREMENTOS DE MAMÍFEROS? MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN.**

Los excrementos desprenden un olor particular, están retorcidos y en terrenos abiertos. Sin embargo, las egagrópilas no son retorcidas, tampoco desprenden un olor almizclado y suelen encontrarse debajo de dormideros, acantilados y zonas de alimentación.

Para completar el trabajo de campo nos desplazamos a una zona de Extremadura donde conocíamos de la presencia de ciertas especies productoras de egagrópilas, concretamente a una zona rural en el término municipal de Gargüera, en Cáceres. Las muestras que recogimos estaban situadas bajo dormideros, edificios, etc. En la Figura 3 se muestra un pajar donde se encontraron alguna de las muestras. Una vez recogidas, las muestras se someten a un proceso de limpieza para liberar las partes que son utilizadas para su posterior identificación.

El aspecto de una de las egagrópilas tal y como fueron recogidas se muestra en la Figura 4. En las Figuras 5 y 6 se observan alguno de los restos óseos obtenidos tras la limpieza. El tamaño de las egagrópilas oscilan entre los 3 y 5 cm y los cráneos una vez limpios miden en torno a 1,5 o 2 cm. En un primer momento las muestras completas se

**Figura 4. Pajar donde se encontraban las egagrópilas.**



**Figura 5. Egagrópila recogida por los autores.**





sumergen en agua durante varios días tratando de moverlas cada cierto tiempo para acelerar su desmenuzamiento. Posteriormente se utiliza alcohol o amoníaco para acabar la limpieza. Estos productos provocan la descomposición de los últimos restos de tejido muscular y otras estructuras diferentes del tejido óseo que no son de utilidad para nuestro trabajo. Una vez llevado a cabo este proceso, el resultado es un número muy variable de partes óseas que, normalmente, pertenecen a más de una presa que ha sido ingerida por el ave. A partir de aquí, tratamos de identificar a qué tipo de especie pertenecen para sacar las conclusiones pertinentes.

**Figuras 5 y 6. Partes de restos óseos encontrados en las egagrópilas tras su limpieza.**



### CONCLUSIONES

A partir de las muestras de egagrópilas recogidas en el campo y su estudio, concluimos que estas, por su color, tamaño y por los restos que contienen pueden pertenecer a la Lechuza Común (*Tyto alba*) o a un Mochuelo (*Athele noctua*). Podemos afirmar esto con seguridad, ya que en los lugares en los que hemos encontrado las muestras (dormideros, pajares, etc.) también hemos visto alguna de estas especies de rapaces. Sin embargo, como ya suponíamos, no hemos sido capaces de identificar a qué animales pertenecen los restos óseos encontrados al desmenuzar las muestras, y por tanto, conocer en particular la alimentación de dichas aves rapaces.

### AGRADECIMIENTOS

Por su ayuda, al veterinario Dr. Santiago Moreno Alcalde, a la profesora titular de la UPM y tutora del presente trabajo Dña. María Alvir Morencos y a los compañeros Pablo Rodríguez Fernández-Victorio, y Santiago López Jurado Caputo.

### BIBLIOGRAFÍA

- BROWN, F y FERGUSON, J. (2003): Egagrópilas. En *Huellas y Señales de las aves de España y Europa*. (Capítulo 6). Madrid: Ed. Omega.
- JÁÑEZ, F. 2012 "Rapaces nocturnas". Rev. *Brinjal. Centro de Recuperación de Aves Nocturnas*. 60-61.
- MIKKOLA, H. (1995): Características especiales de los búhos, egagrópilas. En *Rapaces Nocturnas de Europa*, 1ª Edición. Madrid: Ed. Perfils.
- Taller de estudio de egagrópilas en aves rapaces. Disponible en: <http://www.biodiverciudad.org/talleres>, 15/04/13.
- [www.biodiverciudad.org](http://www.biodiverciudad.org). Fecha de consulta: 15/04/13.
- [www.kalipedia.com](http://www.kalipedia.com). Fecha de consulta: 13/04/13.





## EXPLOTACIÓN DE GALLINAS ECOLOGICAS PARA LA PRODUCCION DE HUEVOS

Núñez Uzquiano, Nuria

Tutores: Villamide, María Jesús

*Departamento de Producción Agrícola. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*  
n.nunez@alumnos.upm.es

### RESUMEN

El presente proyecto se localiza en la localidad de Sevilleja de la Jara, en la provincia de Toledo. Se trata de una explotación ecológica de gallinas ponedoras, de ámbito familiar, de la cual el promotor quiere obtener beneficios con la venta de huevos ecológicos, vía internet, tiendas de la localidad y alrededores y en los supermercados de la ciudad más cercana (Talavera de la Reina). Para el promotor uno de los requisitos será el bienestar de las gallinas a lo largo de su ciclo de vida y minimizar los efectos negativos al medio que rodea la explotación. Se utilizarán gallinas ISA Brown de 1 día para que su adaptación a la explotación sea óptima. El número de gallinas en la explotación será de 800, divididas en dos lotes y para cada lote un gallinero, con esto se evitarán contagios en caso de enfermedades. Además las instalaciones contarán con la zona de cría, alejado de los gallineros de ponedoras. La alimentación se basará en pienso ecológico, restos de huertas ecológicas vecinas y vegetación y fauna de los parques en los que se dividirá la finca.

**Palabras clave:** *Ecológico, Huevos, Explotación*

### INTRODUCCION

En esta comunicación se presentará un resumen del proyecto fin de Grado titulado “Explotación Ecológica de Gallinas Ponedoras en Sevilleja de la Jara (Toledo)”. En primer lugar se definirán las condiciones del promotor, luego se definirán las fortalezas y debilidades de este tipo de explotación, se describirán los elementos más importantes de la propuesta y finalmente se resumirán las principales conclusiones.

El promotor propone realizar una explotación de ámbito familiar en una finca (de 0,789 ha) de su propiedad para la producción de huevos siguiendo la normativa de ganadería ecológica. Los requisitos del promotor son una baja inversión, utilización de mano de obra familiar y ocasional de la zona, sostenibilidad económica y medioambiental de la explotación.

En primer lugar se realiza un análisis DAFO con las principales fortalezas y debilidades de la explotación que demanda el promotor (Tabla 1).



Tabla 1. Análisis DAFO de la explotación.

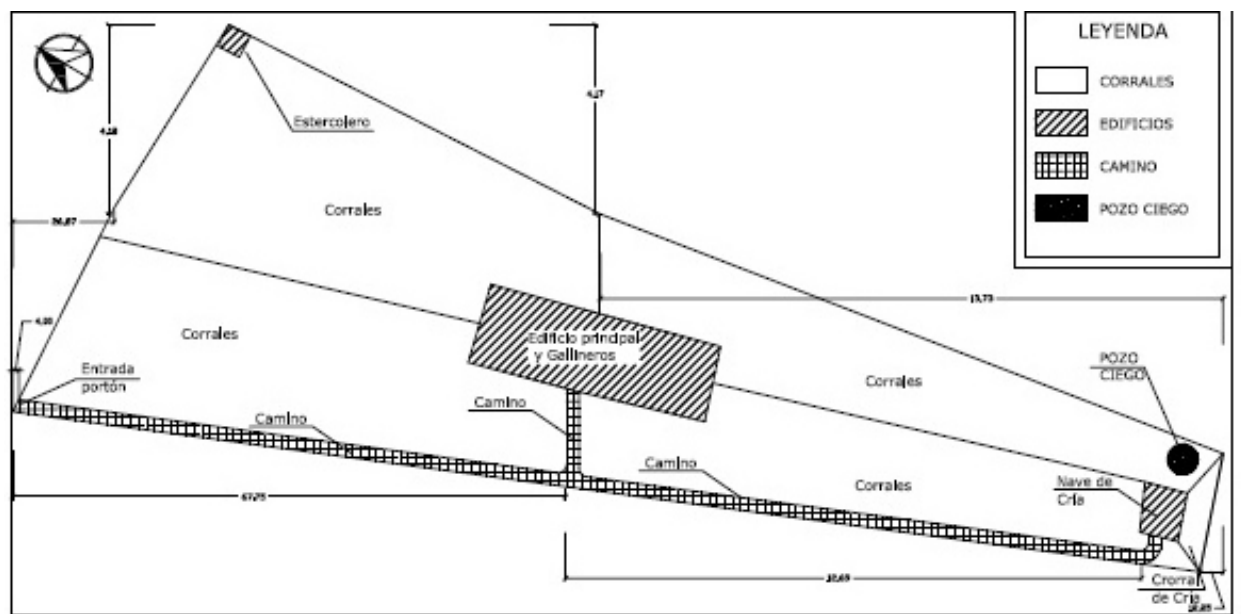
|  |  |
|--|--|
| <b>Debilidades</b><br>Alto coste alimentación<br>Menor productividad<br>Restricciones uso terapéuticos<br>Vías de comercialización | <b>Amenazas</b><br>Vectores de transmisión enfermedades<br>Lixiviación del nitrógeno de las deyecciones<br>Daños en el ecosistema<br>Impacto ambiental |
| <b>Fortalezas</b><br>Aceptación social<br>Producción ligada a la tierra<br>Aplicación de las deyecciones en agricultura ecológica  | <b>Oportunidades</b><br>Venta de huevos de gran valor añadido<br>Uso eficiente de desechos de huertas ecológicas<br>Puestos de trabajo indirectos      |

### PROYECTO DE UNA EXPLOTACION DE GALLINAS ECOLOGICA

La solución propuesta ante los requisitos del promotor consiste en una explotación dividida en dos gallineros para dos lotes de 400 gallinas; una zona administrativa, aseo y almacenaje; gallinero de cría de las pollitas de un día para que se adapten a las condiciones ecológicas; estercolero, donde se pretende que se reduzca el porcentaje de agua de la gallinaza para su posterior uso como abono en huertas y olivares cercanos de tipo ecológico. Además al ser una explotación ecológica la energía utilizada para calefacción e iluminación será obtenida a partir de placas fotovoltaicas.

Las gallinas elegidas para la explotación serán de la estirpe ISA Brown de 1 día, para que su adaptación al sistema ecológico sea desde su nacimiento y no esperar a la adaptación en la época de puesta. El tipo de gallinas seleccionado se debe a la rusticidad de estas gallinas y la gran productividad que tienen, para minimizar el efecto del sistema ecológico donde el pico de puesta será menor, reduciéndose en un 20% en la circunstancia más optimista.

Figura 1. Plano general de la finca con indicaciones de cada una de las instalaciones y construcciones.





La finca en la que se van a situar las gallinas se va a dividir en un edificio principal (Figura 1), en medio de la finca, el cual se dividirá en dos gallineros de puesta a los extremos, separados por la zona administrativa, aseos, almacén, recogida y etiquetado de huevos. Con esta separación se evitan contagios de enfermedades y el manejo de las gallinas será más fácil para los operarios al estar divididos en dos lotes. Este edificio estará rodeado por cuatro parques los cuales irán rotando cada dos meses para evitar el sobrepastoreo de las gallinas en una misma zona. Además se diseñará un gallinero para la cría de las pollitas hasta la semana 17, y por último un estercolero donde se depositaran las deyecciones de las gallinas hasta su utilización como abono en las huertas ecológicas de la zona, de donde se obtendrá parte del forraje.

La alimentación de las gallinas se formulará para intentar cubrir las necesidades nutritivas definidas por FEDNA (2008) y las restricciones impuestas por la normativa ecológica (Reglamento (CE) nº834/2007 y nº 889/2008). La dieta media diseñada (Tabla 2) se va a basar en 77 g de pienso ecológico; 30 g (MS) de restos de huertas ecológicas vecinas (fresco y/o ensilado para las épocas de escasez de pasto en los corrales), variable en función de los cultivos según la época del año; y 10 g de maíz grano para mantener la calidad del huevo (color yema y tamaño) y mejorar su bienestar al consumir el grano sin procesar.

**Tabla 2. Consumo diario y mensual de alimento ecológico para la producción de huevos.**

| Alimento  | Consumo diario/gallina (g) | Consumo mensual / explotación (kg) |
|---|----------------------------|------------------------------------|
| Pienso ecológico  | 77                         | 2000                               |
| Forraje (restos de huerta frescos o ensilados) expresados en MS | 30                         | 750                                |
| Grano de maíz   | 10                         | 250                                |
| Conchilla de ostras   | 10                         | 250                                |

Además dispondrán de un comedero con conchilla de ostras (*ad libitum*), para que consuman la cantidad de calcio que necesiten en cada momento y así la calidad de la cascara de huevo será mejor. En la Tabla 2 se presenta el consumo medio diario y mensual de alimentos por las gallinas de puesta.

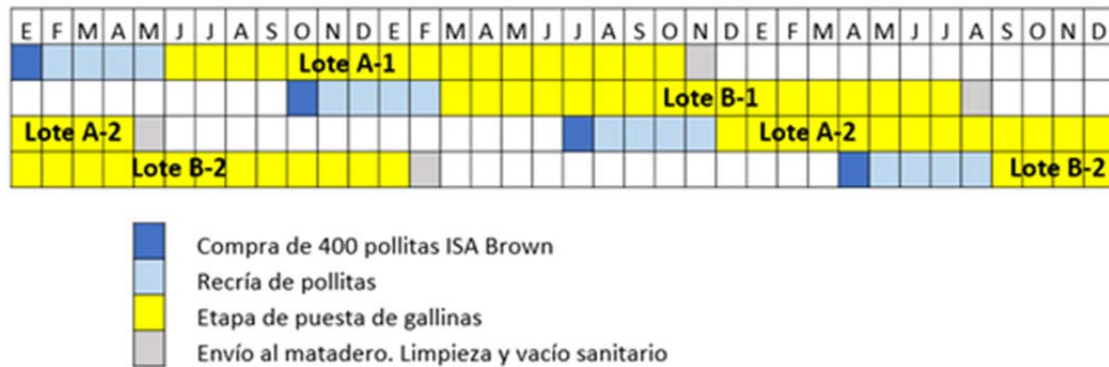
El manejo de las gallinas se realizará de forma independiente en cada uno de los dos lotes. El ciclo productivo de los 4 primeros lotes se presenta en la Figura 2. La producción media de huevos mensual es de 1600 docenas. Los huevos serán vendidos de forma directa en la propia explotación y vía internet, además de venta indirecta mediante distribuidores de la zona en sus comercios y en supermercados en la localidad de Talavera de la Reina.

La explotación va a ser atendida por el promotor y su familia más directa, ya que se quiere que sea una empresa familiar y no tener que contratar a personal ajeno a la familia. La plantilla fija de la explotación por lo tanto constará de 4 trabajadores, en turnos y a tiempo parcial, por lo que en cada turno trabajarán dos personas.

Este proyecto se estima que tenga un coste inicial de ciento noventa y un mil ciento seis euros con noventa céntimos (191.106,90).



**Figura 2. Ciclos productivos de los 4 primeros lotes de gallinas, representados a lo largo de 3 años.**



Para garantizar la calidad higiénico-sanitaria de los huevos se realizará un estricto control de toda la explotación basándose en la prevención e higiene. Durante la etapa de recría se vacunará a las pollitas, para evitar cualquier problema durante la puesta. Si esporádicamente fuese necesario un tratamiento, se utilizarán medicamentos homeopáticos específicos. Todos los desinfectantes, higienizantes y vacunas utilizados deberán ser aprobados por el comité autónomo de producción ecológica.

### CONCLUSIONES

Con las evaluaciones que se han elaborado, cumpliendo con la normativa de ganadería y productos ecológicos, se puede decir que el siguiente proyecto, después de haber sido aprobado por la Administración, sí es viable, contribuye a crear puestos de trabajo indirectos aprovechando una finca que actualmente está en desuso. Desde un punto de vista medioambiental contribuye a aumentar la diversidad en la zona al aumentar el nº de pájaros, insectos; y ayuda a que no se deteriore el entorno.

### AGRADECIMIENTOS

Mostrar mi gratitud a la profesora Doña María Jesús Villamide, por la confianza puesta en mi persona y en mis ideas reflejadas en este proyecto. Y agradecer al Congreso de Estudiantes por la oportunidad de participar en él.

### BIBLIOGRAFÍA

- FEDNA (2008). NORMAS FEDNA, 2008.  
Núñez Uzquiano, Nuria. Explotación Ecológica de Gallinas Ponedoras en Sevilleja de la Jara, Toledo. TFG Ingeniería Agroambiental. UPM.  
Reglamento (CE) nº834/2007 del Consejo de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos.  
Reglamento (CE) nº 889/2008 de la Comisión de 5 de septiembre de 2008 por el que se establecen disposiciones de aplicación del reglamento nº 834/2007.



## OPTIMIZACION DE UN METODO PARA CUANTIFICAR EL ÁCIDO FERÚLICO EN CEREALES Y DERIVADOS

Martínez, Ainhoa

Tutores: Morata, Antonio ; Callejo, M<sup>a</sup> Jesús

Departamento de Tecnología de los Alimentos. E.T.S.I..Agrónomos Universidad Politécnica de Madrid.  
a.martinezo@aumnos.upm.es

### RESUMEN

Recientemente se ha puesto de manifiesto la ingesta de alimentos con propiedades antioxidantes, y entre ellos aquellos ricos en compuestos fenólicos como el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico. El ácido ferúlico protege los granos del trigo proporcionando una barrera física y química, combate radicales destructivos y disuade el consumo de insectos y animales. Algunas de sus propiedades más importantes son: antioxidante, anticarcinógeno, hepatoprotector, antiinflamatorio y vasodilatador entre otras. En el presente trabajo se pretende optimizar el método de determinación de ácido ferúlico mediante un pretratamiento térmico de la muestra y un posterior tratamiento alcalino a diferentes extracciones para ser analizado mediante HPLC-PDA (high-performance liquid chromatography photo-diode array). Una vez optimizado el método en una muestra de salvado de trigo, se llevara a cabo la determinación del ácido ferúlico en distintos productos derivados de cereales.

**Palabras clave:** Ácido ferúlico, Salvado de trigo, Hidrólisis

### INTRODUCCION

El ácido ferúlico (4-hidroxi-3-metoxi-ácido cinámico) es un compuesto fenólico presente en tejidos vegetales. Fue aislado de *Ferula foetida* para su determinación estructural y el nombre está basado en dicha planta (Kumar & Pruthi, 2014).

Es uno de los metabolitos de la biosíntesis de lignina a partir de la fenilalanina y tirosina en plantas. Se encuentra en las plantas de dos formas: libre y conjugado. El ácido ferúlico está normalmente en los cereales, cáscara de la fruta y raíces y cascara de los vegetales (Zhao & Moghadasian, 2008). En el grano de cereal, está presente principalmente en el pericarpio (Dykes & Rooney, 2007), constituido por las envueltas que protegen al grano y se separan durante la molienda junto con la capa de aleurona, formando parte del salvado. Se encuentra unido a arabinoxilanos y otros polisacáridos o proteínas. La capa de aleurona también tiene una alta capacidad antioxidante, atribuida al alto contenido en ácido ferúlico, ya que puede suponer hasta un 60% de la capacidad antioxidante de esta fracción (Mateo Anson, et al., 2009). El ácido ferúlico protege a los granos de trigo y otros cereales proporcionando barreras físicas y químicas a través de los hidratos de carbono de reticulación, tiene actividades antioxidantes para combatir los radicales destructivos y la astringencia que disuade el consumo de insectos (Hai Liu, 2007).

La información sobre la ingesta de ácido ferúlico es deficiente. El consumo de granos enteros contribuye significativamente a la ingesta diaria de ácido ferúlico con 167 mg (35-89 mg total de ácido ferúlico/100 g de grano) (Zhao & Moghadasian, 2008). El ácido ferúlico exhibe un amplio rango de efectos terapéuticos contra varias enfermedades, incluyendo cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Itagaki, et al., 2009).

La extracción de ácido ferúlico ofrece un estímulo medioambiental y económico complementario para las industrias ya que se utiliza en los ingredientes de muchos alimentos funcionales y nutracéuticos. Numerosos métodos alcalinos, ácidos y enzimáticos han sido propuestos en la literatura, pero la optimización de los parámetros críticos para el aislamiento de ácido ferúlico como el tiempo de extracción, pH y la temperatura es esencial para un alto rendimiento (Kumar & Pruthi, 2014). El objetivo del presente trabajo es optimizar un método para la determinación de ácido ferúlico basado en el método propuesto por Saunier et al, 2001, con modificaciones y cuantificar el contenido de este ácido en diferentes cereales y derivados.



## METODOLOGÍA

### 1. Optimización del método de extracción de ácido ferúlico.

#### 1.1. Preparación de la muestra

Para la puesta a punto del método, se partió de una muestra de salvado comercial, que fue previamente molida mediante un mortero o trituradora hasta que quedara un tamaño homogéneo de la muestra. Una vez homogeneizada, se pesaron 0.5g de muestra y mezclada con 10 ml de H<sub>2</sub>O desionizada. Se llevó la muestra a un calentamiento a 160°C durante 30 min en autoclave. Más tarde, las muestras fueron centrifugadas a 5000 rpm 5 min para separar el sobrenadante y el residuo. El residuo fue lavado con agua, con etanol y por último un lavado con acetona. Los lavados con etanol y acetona fueron desechados, mientras que el lavado con agua fue añadido al sobrenadante. Una vez realizados todos estos lavados, el residuo se secó a 40°C durante 24 horas. Las muestras fueron realizadas por cuádruplicado.

#### 1.2. Hidrólisis alcalina.

El residuo seco fue hidrolizado con 10 ml NaOH 2N durante 30 min a 35°C. Una vez pasado este tiempo, las muestras fueron centrifugadas (5000 rpm 5 min) para separar el sobrenadante del residuo, y a este residuo se le realizaron 2 extracciones más con NaOH 2N, y se unieron los sobrenadantes.

#### 1.3. Análisis mediante HPLC-PDA.

Los sobrenadantes de las extracciones (por separado) fueron llevados a un pH<2 con HCl al 50% y el ácido ferúlico fue extraído con 2 ml de diacetil eter. El diacetil eter fue evaporado hasta la sequedad y el residuo se recogió con 1 ml de MetOH/H<sub>2</sub>O en viales de cromatografía. Se analizó mediante cromatografía de HPLC en fase reversa con columna C18 y con el detector PDA, a una longitud de onda de 323nm.

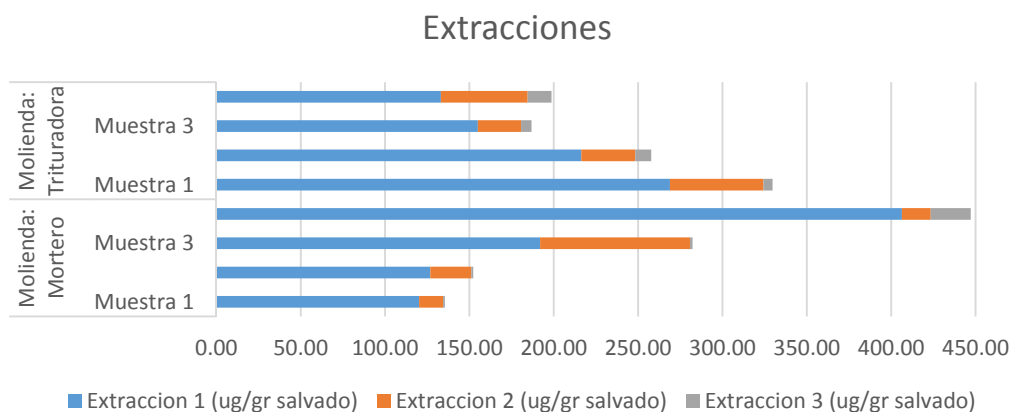
### 2. Determinación de ácido ferúlico en productos derivados de cereales.

Se llevó a cabo la determinación de ácido ferúlico mediante el método anteriormente descrito en pan blanco y pan integral (40% harina integral), con la diferencia de que los sobrenadantes de cada una de las extracciones con NaOH 2N fueron juntados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método escogido se basó en la modificación del método descrito por Saunier et al, 2001. En el primer ensayo la muestra fue molida con un mortero de madera y siguiendo las condiciones descritas en la metodología. El patrón utilizado fue ácido ferúlico en las concentraciones de 1, 10, 20 y 100 mg/l.

**Gráfica 1. Representación del ácido ferúlico extraído en cada una de las extracciones con NaOH.**



La cantidad de ácido ferúlico conseguido en cada una de las extracciones con NaOH no es uniforme en cada una de las muestras, pero el mayor contenido de ácido ferúlico en



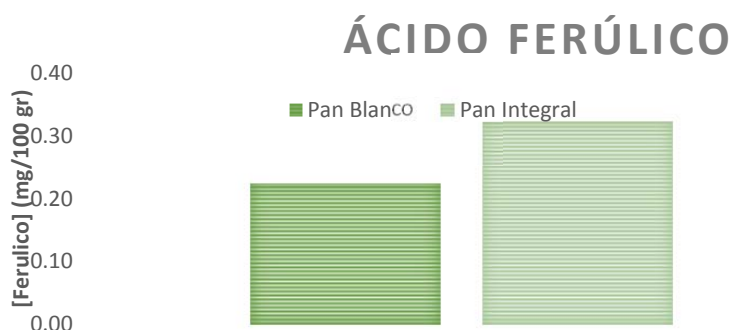
las muestras es conseguido en la extracción 1 y el menor contenido es conseguido en la extracción 3. En la molienda con trituradora, el contenido de ácido ferúlico obtenido en las diferentes extracciones es más uniforme que en el caso de la molienda con el mortero.

**Tabla 6. Contenido de ácido ferúlico cambiando el sistema de molienda.**

|                          | Mortero       | Trituradora  |
|--------------------------|---------------|--------------|
| Total (mg/100 g salvado) | 25,43 ± 14,44 | 24,32 ± 6,54 |

La cantidad de ácido ferúlico es menor de lo esperado ya que Zhao & Moghadasian (2008) publicaron que el contenido de salvado en trigo es de 530-540 mg/100gr de salvado. No hay diferencia en la cantidad total de ácido ferúlico en las moliendas estudiadas. En el estudio de la cantidad de ácido ferúlico en los diferentes panes fueron llevados a cabo mediante la molienda con la trituradora.

**Gráfica 2. Contenido de ácido ferúlico en los panes estudiados.**



La cantidad de ácido ferúlico en el caso del pan integral es mayor que en el caso del pan blanco. Esto es debido al 40% de harina integral que lleva el pan integral ya que los compuestos fenólicos se encuentran en mayor proporción en la capa de aleurona de los granos de trigo y la capa de aleurona es eliminada en el proceso de harina blanca. Kumar y Pruthi (2014) publicaron que el contenido de ácido ferúlico en pan blanco es de 8,2mg/100g por lo que nuestros resultados son mucho menores.

### CONCLUSIONES

Las modificaciones realizadas en el método propuesto para cuantificar el ácido ferúlico, no han sido tan satisfactorias como se esperaba, ya que las cantidades obtenidas de este ácido han sido muy parecidas. En cuanto al contenido en los diferentes panes, es mayor en el pan integral por su contenido en harina integral. Se propone seguir haciendo ensayos para optimizar el método y así poder obtener el contenido de ácido ferúlico sea lo más alto posible.

### AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis tutores todo el conocimiento y ayuda aportada en la realización de este proyecto.

### BIBLIOGRAFIA

- Dykes, L. & Rooney, L. W., 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Food World*, 52(3), pp. 105-111.
- Hai Liu, R., 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of cereal science*, pp. 207-219.
- Itagaki, S., Kurkawa, T., Nakata, C. & Saito, Y., 2009. In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: A comparative study with other natural oxidation inhibitors. *Food Chemistry*, pp. 466-471.
- Kumar, N. & Pruthi, V., 2014. Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports*, pp. 86-93.
- Mateo Anson, N. et al., 2009. Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science*, Issue 49, pp. 296-300.
- Zhao, Z. & Moghadasian, M. H., 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry*, pp. 691-702.







## EFFECTO DE LA NUTRICIÓN MATERNA SOBRE EL DESARROLLO FETAL Y PLACENTARIO EN LA OVEJA

López-Tello, Jorge

Tutor: Arias-Álvarez, María

*Departamento de Producción Animal. Facultad Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.*  
*jorlop01@ucm.es*

### RESUMEN

El crecimiento fetal está influenciado por el estado nutricional de la madre. Pautas nutricionales excesivas o deficientes en determinadas fases de la gestación pueden generar modificaciones a nivel placentario y por consiguiente en el crecimiento fetal, que pueden desencadenar alteraciones pre y post-natales, afectando también a la productividad del individuo. A su vez, el uso de animales como modelos experimentales permite estudiar estos procesos pudiendo ser extrapolados a la medicina humana.

**Palabras clave:** *Feto-Placenta, Nutrición, Oveja*

### INTRODUCCIÓN

El ambiente intrauterino en el que se encuentra el feto durante su desarrollo prenatal influye sobre su desarrollo corporal, pudiéndole predisponer a un mayor riesgo de padecimiento de enfermedades en la vida adulta (Barker, 2007). Estudios epidemiológicos han demostrado este hecho, observándose una relación directa entre el desequilibrio de nutrientes maternos durante la gestación y el desarrollo de hipertensión, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, hiperlipidemia u obesidad en la progenie (Langley-Evans, 2006). Esto se conoce como Síndrome Metabólico definido como el conjunto de alteraciones metabólicas y cardiovasculares que están relacionadas con la resistencia a la insulina y la obesidad (Gallo *et al.*, 2010). El nivel de ingestión de nutrientes de la madre afecta al desarrollo fetal desde las primeras etapas de la vida embrionaria (Robinson *et al.*, 1994) originando lo que se conoce como reprogramación fetal, definida como el readecuamiento fisiológico por efecto de un estímulo o alteración precoz en un periodo sensible del desarrollo fetal (Lucas, 1991). Además, las alteraciones en el consumo materno están asociadas a una mayor tasa de partos prematuros y a retrasos en el crecimiento fetal, traduciéndose en un mayor riesgo de mortalidad y morbilidad neonatal (Funston *et al.*, 2010). A su vez, la restricción de nutrientes durante las diferentes etapas de gestación está relacionado con retraso en el desarrollo folicular ovárico en el feto (Bird *et al.*, 2003; Bee, 2004).

El presente trabajo pretende abordar la revisión sobre el efecto que tiene el déficit nutritivo durante la gestación sobre el desarrollo embrionario, el desarrollo fetal y placentario y sus consecuencias en la vida adulta del animal enfocando los estudios en la oveja como modelo animal.

La oveja como modelo animal:

En ovinos, la duración media de gestación es de 148-150 días. La implantación y placentación comienza el día 15-16 de gestación, pero no se completa hasta el día 50 a 60 (Guillomot, 1995). La oveja tiene una placenta cotiledonaria cóncava, donde las vellosidades se encuentran en áreas concretas (cotiledones). Estos cotiledones se engranan con las carúnculas maternas (preestablecidas en el útero), formando los placentomas, sitio donde se produce el intercambio feto-materno (Latshaw, 1987), por lo que el tamaño y la capacidad de transferencia de nutrientes de la placenta juegan un



papel central en la determinación de la trayectoria de crecimiento prenatal del feto y por lo tanto influye directamente en el peso al nacimiento (Bell *et al.*, 1999).

La oveja sirve como modelo para los estudios experimentales y descriptivos del transporte placentario, metabolismo y endocrinología tanto materno como fetal (Wallace *et al.*, 2005). El estudio de las alteraciones del crecimiento fetal en esta especie puede llevarse a cabo por diversos medios, como la restricción materna de nutrientes, la embolización de la placenta con microesferas, administración de corticosteroides o quirúrgicamente a través de la ligadura de la arteria umbilical o por la limitación de sitios de implantación (Anthony *et al.*, 2003). Todos estos métodos disminuyen la cantidad de nutrientes y oxígeno que le llega al feto, al reducirse la funcionalidad placentaria. Aunque las técnicas quirúrgicas podrían aportar una mayor información desde el punto de vista médico, pues al afectar el flujo sanguíneo compagina la reducción nutricional con una menor disponibilidad de oxígeno, estos métodos provocan una mayor mortalidad fetal. Sin embargo, los estudios de restricción alimentaria pueden reproducir las situaciones en las que existen déficits alimentarios en madres gestantes y sus consecuencias; y sirven a su vez, desde el punto de vista productivo, para establecer pautas de restricción que no afecten al desarrollo y a la salud fetal, pero si resulten en un menor gasto económico del productor en pienso, lo que podría beneficiar a la industria agraria.

Por consiguiente, la relación entre la pauta nutricional de la madre durante la gestación y el crecimiento del feto es importante para determinar el éxito de la misma, así como la salud y productividad del individuo (Redmer *et al.*, 2004). El estudio de estas interacciones usando la oveja como modelo experimental, podría ser una valiosa fuente de información para las investigaciones sobre las alteraciones del desarrollo embrionario, del crecimiento fetal y placentario y sus consecuencias en la progenie. Pudiendo ser útil para avanzar en el conocimiento médico y a su vez desde un punto de vista productivo, repercutir en la productividad, en el bienestar del animal y en los posibles beneficios del ganadero.

#### Efecto de la nutrición sobre el desarrollo embrionario:

Durante la primera etapa de gestación en la oveja (primeros 30-50 días desde la fecundación) una nutrición inadecuada puede no tener demasiada relevancia sobre el desarrollo embrionario, debido a que los nutrientes requeridos en este periodo son mínimos. Sin embargo, se ha observado que la sobrealimentación así como la desnutrición en este periodo pueden ser perjudiciales o beneficiosas para el desarrollo del embrión. Abecia *et al.* (1997) observó un retraso en el desarrollo de los embriones procedentes de ovejas desnutridas 8 días después del apareamiento. Sin embargo, otros autores como Annett y Carson (2006), obtuvieron una mayor tasa de gestación en ovejas de 1 a 2 años de edad sometidas a una restricción alimentaria del 40% sobre sus necesidades de mantenimiento desde el día 0 al 30 de gestación, sin afectar al peso del nacimiento, la viabilidad o el rendimiento del cordero. McEvoy *et al.* (1997) observaron un retraso en el desarrollo embrionario en ovejas suplementadas con urea en la dieta. Esto puede ser debido a que el exceso de nitrógeno en el rumen eleva la urea en plasma y con ello los niveles de amoníaco en el útero, provocando un aumento en la mortalidad embrionaria.

#### Efecto de la nutrición sobre el desarrollo placentario-fetal:

La placenta es un órgano temporal entre la madre y el feto que juega un papel fundamental sobre el desarrollo y la viabilidad fetal durante toda la gestación. A parte de transferir oxígeno y nutrientes al feto y eliminar desechos metabólicos, también produce gran cantidad de hormonas y factores de crecimiento. Durante esta fase de la gestación, en la cual la placenta es altamente funcional, el crecimiento fetal es más rápido, al



cambiar el metabolismo de la hembra para favorecer el desarrollo exponencial del feto. Debido a que el crecimiento de la placenta precede al crecimiento fetal, hay una asociación entre el tamaño fetal y el placentario (Reynolds y Redmer, 1995). Es por ello, que las dimensiones placentarias juegan un papel vital, de manera que su tamaño, morfología y función afectará al desarrollo del feto. En este sentido, Everitt (1964) demostró que el consumo de alimento durante la gestación en ovino influía en el peso de la placenta. Sin embargo, existen muchos factores como la duración y el nivel de ingesta o la edad de la oveja, que pueden modificar la forma en la que la placenta responde a la oferta de nutrientes. Así, en ovejas sometidas a una restricción del 50% sobre sus requerimientos nutricionales entre los días 28 y 77 de gestación, se observó un aumento en el peso de la placenta en el día 144 de gestación (Heasman *et al.*, 2000). Por el contrario, McMullen *et al.* (2005) determinaron que si la restricción se produce entre los días 85 y 90 de la gestación, el peso de la placenta se reduce significativamente en el día 90 de gestación, pero no en el día 133.

Efectos de la nutrición sobre el desarrollo postnatal:

Como ya se ha mencionado, muchos estudios han establecido que tanto la desnutrición (Ford *et al.*, 2007), como la sobrealimentación (Wallace *et al.*, 2005) en ovejas pueden afectar el crecimiento y el desarrollo fetal. Sin embargo, pocos han tratado los efectos sobre el crecimiento postnatal y la composición corporal (Radunz *et al.*, 2011).

Si el desarrollo prenatal se ve comprometido puede repercutir a su vez en el peso al nacimiento, la longitud del recién nacido o generar un crecimiento desproporcionado de los tejidos (Wu *et al.*, 2006). En condiciones de déficit nutricional, el feto tiende a redirigir los nutrientes a tejidos y órganos esenciales, tales como el cerebro o hígado a expensas de los menos vitales. Como resultado, el tamaño al nacimiento y el desarrollo muscular (Greenwood *et al.*, 2000), la formación del folículo de lana (Schinkel y Short, 1961), la adiposidad (Budge *et al.*, 2004) y el desarrollo del tracto gastrointestinal (Trahair *et al.*, 1997) pueden verse perjudicados. En consecuencia, tales perturbaciones en el desarrollo prenatal pueden afectar a la supervivencia neonatal o tener influencia sobre la productividad post-natal del ganado. Desde un punto de vista agrario, las alteraciones en el desarrollo del cordero pueden tener un impacto económico significativo para el ganadero ya que esta ligado a una menor masa muscular y por consiguiente a un menor rendimiento de la canal (Greenwood *et al.*, 2000).

En humana, las alteraciones en el desarrollo fetal no solo provocan complicaciones postnatales inmediatas, sino que, como ya comentamos anteriormente, hay una mayor incidencia de desarrollar enfermedades cardiovasculares, diabetes u obesidad (Godfrey, 2002). Evidencias similares se han obtenido en los animales de granja, y en particular en la oveja, ya que aquellos fetos con alteraciones en su crecimiento desarrollaron problemas cardiovasculares y metabólicos en etapa postnatal (Greenwood y Bell 2003, Fowden *et al.*, 2005).

## CONCLUSIONES

Tras esta revisión bibliográfica podemos concluir que la nutrición juega un papel determinante en el éxito de la gestación en todos los mamíferos y en particular en la oveja. Tanto un exceso como una falta de nutrientes durante el desarrollo embrionario y/o fetal pueden predisponer a alteraciones pre y postnatales que pueden prolongarse a la vida adulta del individuo generando problemas de salud y desde un punto de vista productivo, repercutiendo además en la productividad, en el bienestar del animal y en los posibles beneficios del ganadero.



## BIBLIOGRAFIA

- Abecia J.A., Lozano J.M., Forcada F., Zarazaga L. 1997. Anim. Reprod. Sci., 48: 209–218.
- Annett R.W., Carson A.F., 2006. J. Anim. Sci., 82: 947–954.
- Anthony R.V., Scheaffer A.N., Wright, C.D., Regnault T.R.H. 2003. Reprod. Suppl.:183–194.
- Barker D.J. 2007. J. Intern. Med., 261: 412–417.
- Bee G. 2004. J. Anim. Sci., 82: 826–836.
- Bell A.W., Hay W.W., Ehrhardt R.A., 1999. J. Reprod. Fert. Suppl., 54: 401–410.
- Bird I.M., Zhang L., Magness R.R. 2003. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 284: 245–258.
- Budge H., Edwards L.J., McMillen I.C., Bryce A., Warnes K., Pearce S. 2004. Biol. Reprod., 71:359–365.
- Everitt G.C. 1964. Nature, 201: 1341–1342.
- Ford, S. P., Hess B. W., Schwoppe M. M., Nijland M. J., Gilbert J. S., Vonnahme K. A., Means W. J., Han H., and Nathanielsz P. W. 2007. J. Anim. Sci., 85:1285–1294.
- Fowden, A.L., Giussani D.A., Forhead A.J. 2005. Early Hum. Dev. 81:723–734.
- Funston R.N., Larson D.M., Vonnahme K.A. 2010. J. Anim. Sci., 88: 205–215.
- Gallo J.L., Díaz-López M.A., Gómez-Fernández J., Hurtado F., Presa J.C., Valverde, M. 2010. Clin. Invest. Ginecol. Obstet., 37:239–245.
- Godfrey K.M. 2002. Placenta, 23: 20–7.
- Greenwood P.L., Bell A.W. 2003. Reprod. Suppl., 61:195–206.
- Greenwood P.L., Hunt A.S., Hermanson J.W., Bell A.W. 2000. J. Anim. Sci., 78: 50–61.
- Guillomot M., 1995. J. Reprod. Fert., 49: 39–51.
- Heasman L., Brameld J., Mostvn A., Budge H., Dawson J., Buttery P., Stephenson T., Symonds M.E. 2000. Reprod., Fert. and Devel., 12: 345–350.
- Langley-Evans S.C. 2006. Proc. Nutr. Soc., 65: 97–105.
- Latshaw W.K., 1987. Oxford: Blackwell Scientific Publications, pp: 49–74.
- Lucas A. 1991. En: Block G.R. and Whelan J, ed. John Wiley & Sons, pp: 38–55.
- McEvoy T.G., Robinson J.J., Aitken R.P., Findlay P.A., Robertson I.S. 1997. Anim. Reprod. Sci., 47: 71– 90.
- McMullen S., Osgerby J.C., Miln, J.S., Wallace J.M., Wathes D.C. 2005. Placenta 26: 25–33.
- Radunz A.E., Fluharty F.L., Susin I., Felix T.L., Zerby H.N., Loerch S.C. 2011. J. Anim. Sci., 89:478–488.
- Redmer D.A., Wallace J.M., Reynolds L.P. 2004. Domest. Anim. Endocrinol., 27: 199–217.
- Reynolds L.P., Redmer D.A. 1995. J. Anim. Sci., 73: 1839–1851.
- Robinson J.S., Owens J.A., de Barro T., Lok F., Chidzanja S. 1994. RCOG, pp: 317–334.
- Schinkel P.G., Short B.F. 1961. Aust. J. Agric. Res., 12: 176–202.
- Trahair J.F., De Barro T.M., Robinson J.S., Owens J.A., 1997. J. Nutr., 127: 637–41.
- Wallace J.M., Regnault T.R., Limesand S.W., Hay W.W., Anthony R.V. 2005. J. Physiol. May. 15:19–26.
- Wu G., Bazer F. W., Wallace J. M., Spencer T. E. 2006. J. Anim. Sci. 84:2316–2337.



## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL PÉPTIDO LANZADERA QUE ATRAVIESA LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA, ESTUDIOS ANTERIORES Y POSIBLES APLICACIONES

García Terrón, Ainhoa; Gómez Rubio, Laura; Vicente Martín, María de Fátima.

Tutor: Jordá Miró, Lucía.

*Departamento de Biotecnología y biología vegetal. E.T.S.I Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid)*

*ainhoa.garcia@alumnos.upm.es;*

*laura.gomez.rubio@alumnos.upm.es;fatima.vicente.martin@alumnos.upm.es*

### RESUMEN

En la última década se han realizado grandes avances en el diseño de fármacos. Sin embargo, las enfermedades que afectan al cerebro y al sistema nervioso (SN) son muy temidas, porque la mayoría de medicamentos presentan imposibilidad de atravesar la barrera hematoencefálica (BBB, *Blood-BrainBarrier*). Ésta es una barrera selectiva compuesta por enzimas que regulan el paso de nutrientes y otros compuestos al SN desde la sangre, afectando al paso de medicamentos y condicionando su eficacia. Investigadores del IRB (*Institute for Research in Biomedicine*, Barcelona) han diseñado un péptido de 12 aminoácidos que atraviesa la BBB aprovechándose de las transferrinas, que lo reconocen, y dentro del SN central (SNC) resiste la acción de las proteasas durante 24-48h. Actualmente, se trabaja en la unión del péptido a diversos fármacos para facilitar el transporte de dichas moléculas al interior del SNC. El descubrimiento del péptido descrito en el presente trabajo abre numerosas puertas para el tratamiento de multitud de enfermedades nerviosas.

**Palabras clave:** *barrera hematoencefálica, investigación, transportadores.*

### INTRODUCCIÓN

Debido a la presencia de la barrera hematoencefálica, la cura de enfermedades relacionadas con el Sistema Nervioso Central (SNC) presenta muchas limitaciones. En los últimos años se han realizado distintas investigaciones con el objetivo de encontrar un método de penetrarla sin dañar su función protectora.

El objetivo de este trabajo es recabar información sobre distintos proyectos llevados a cabo a lo largo de los años y resaltar los últimos avances y su importancia futura.

Para ello hablaremos en primer lugar de la BBB según lo encontrado en Dash (1997) y más tarde nos centraremos en las investigaciones llevadas a cabo para superarla.

### DESCUBRIMIENTO DE LA BBB

Ehrlich y Goldman observaron de manera independiente el efecto de la tinción sobre los órganos humanos. Dependiendo de si la administración del tinte era por vía intravenosa o introduciéndolo en el líquido cefalorraquídeo, se teñían todos los órganos exceptuando el cerebro o únicamente el SNC. En 1898 Lewandowsky describió por primera vez la BBB. Setenta años después reuniendo todos estos experimentos y observando al microscopio electrónico, el equipo de Reese localizó por primera vez esta barrera (Dash, 1997).

### ¿QUÉ ES LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA?

La BBB es una barrera biológica muy especializada y restrictiva que combina procesos enzimáticos y una barrera mecánica para aislar el SNC del resto de partes del cuerpo, y por ello produce un ambiente óptimo para la actividad neurológica. Está compuesta de una red de células endoteliales, situadas junto a los capilares sanguíneos cercanos al cerebro, fuertemente unidas por claudina y ocludina, mucho más complejas que las presentes en el resto de epitelios y que no permiten la comunicación entre la sangre y el tejido nervioso. Su unión es tan fuerte que además le confieren resistencia eléctrica. Esta barrera hematoencefálica, no está únicamente formada por células endoteliales sino que se encuentra envuelta por unas prolongaciones de astrocitos (células gliales del SN), los



pies perivasculares, que también contribuyen a la impermeabilidad. Además, existe una defensa enzimática que actúa degradando el material exógeno que no sea necesitado por el organismo.

A pesar de la presencia de la BBB, el cerebro no está totalmente aislado. El SNC necesita para su correcto funcionamiento un aporte continuo de oxígeno y glucosa, además de otros nutrientes esenciales e iones, por lo que presenta una red de capilares muy compleja. Para ello existen mecanismos endógenos especializados en el transporte localizados en la BBB, que podrían ser utilizados como puertas a los medicamentos para el uso terapéutico.

Las únicas moléculas que pueden pasar libremente esta barrera son el agua, el CO<sub>2</sub>, el O<sub>2</sub> y partículas lipídicas muy pequeñas (menores de 400-600 Da). El resto de sustancias han de ser introducidas mediante transportadores. La glucosa se vale del transportador GLUT-1 que predomina en las células endoteliales; los aminoácidos esenciales son transportados por la leucina u otras proteínas de tipo L; los aminoácidos no esenciales son transportados por alanina u otras proteínas de tipo A; e iones como el hierro son transportados por transportadores específicos, en este caso la transferrina.

### **EL PROBLEMA DE LA BBB CON LOS MEDICAMENTOS**

Como esta barrera solo permite el paso de sustancias muy específicas, impide que algunas enfermedades del sistema nervioso para las cuales hay medicamentos desarrollados no se puedan tratar. De hecho, menos del 2% de todos los neurofármacos potencialmente aptos son capaces de cruzarla y resistir a la degradación.

Para superar esta dificultad se han realizado distintas aproximaciones para atravesar la barrera, como la inyección local o vascular de compuestos macromoleculares, aunque la penetración de sustancias al parénquima cerebral es limitada por su tamaño; la inyección directa de fármacos en el cerebro, aunque hay un alto riesgo para el paciente, que se somete a una intervención quirúrgica con cerebro abierto; o inyección de vectores virales, que aún está en estudio (Gecioni & Koepp, 2013)

En los últimos años se han investigado innovadoras técnicas. A continuación resumimos dos de ellas y nos focalizamos en la más reciente.

### **MICROCATERIZACIÓN**

Edward A. Neuwelt (Interlandi, 2011), de UCSO (Universidad de Salud y Ciencia de Oregón) ha desarrollado una manera de atravesar la BBB. Mediante la introducción de una sonda, de un micro catéter, a través de las arterias carótidas se consigue llegar hasta el cerebro, donde se administra una disolución de manitol hipertónico que produce una expulsión de agua de las células por ósmosis, lo que provoca una plasmólisis. Esto hace que aparezcan huecos entre las células, por donde el fármaco entraría.

Esta técnica, que habitualmente se usaba para rebajar la presión intracraneal producida normalmente por traumatismos, se ha utilizado ya en algunos pacientes con tumores. Sin embargo no funciona en todos los tipos de patologías (Interlandi, 2011)

### **MICROBURBUJAS**

Otra de las líneas de investigación que se ha seguido para solucionar los problemas de permeabilidad de medicamentos es el método que se denomina de “microburbujas”, desarrollado por Harvard, IT Massachusetts, la universidad de Columbia y otras instituciones asociadas, liderado por la doctora Elisa Konofagou. Estas consisten en una capa de lípidos que rodean un gas, las cuales se está investigando cómo introducir en sangre. Una vez dentro del torrente sanguíneo serían conducidas mediante ultrasonidos hacia la BBB. Si se cambia la frecuencia del ultrasonido estas burbujas pueden colapsar, consiguiendo romper la barrera en puntos específicos por los que después se introduciría el medicamento de manera mínima. Éste estaría recubriendo unas nanopartículas que son capaces de ser guiadas por rayos de resonancia magnética debido a su carga. Sin embargo aún se trabaja en conseguir aumentar su eficacia, que hasta ahora ha



conseguido que un 20% de los fármacos alcance el cerebro, ya que si se aumentara la intensidad de ultrasonidos podrían provocarse daños en el tejido.

Hasta ahora se ha trabajado con ratones sobre todo en la zona del hipocampo del cerebro, que es encargado de la memoria, lo que sería una manera muy óptima de curar enfermedades como el Parkinson, ya que al tratarse de una enfermedad degenerativa causada por la pérdida de dopamina, se podrían aprovechar las microburbujas para administrárselas de forma exógena.

El problema de estas investigaciones es que al aumentar la permeabilidad de la barrera e incluso generar agujeros, se deja expuesto al paciente a multitud de sustancias tóxicas para el cerebro que podrían desencadenar graves problemas para el organismo (Choi, y otros, 2010)

### PEPTIDOS LANZADERA

Otras líneas de investigación se están centrando en la unión de fármacos a receptores específicos de la membrana, lo que supondría una manera menos agresiva de atravesar la BBB. Se ha trabajado con la unión a sustancias liposolubles (densitylipoprotein receptor) y otras moléculas, lo que aumentaría la permeabilidad de los compuestos, aunque se ha comprobado que en la mayoría de casos aquellos compuestos que consiguen atravesar la barrera son degradados, re-expulsados o quedan atrapados.

En ello se basa la investigación llevada a cabo por el IRB de Barcelona. (Giralt et al., 2015) Los investigadores han conseguido modificar una pequeña proteína compuesta por sólo 12 aminoácidos (H-THRPPMWSPVWP-NH<sub>2</sub>) investigada con anterioridad, que basa su eficacia en los receptores de la proteína transferrina, un transportador usado por el hierro para traspasar la barrera. Como ventaja frente a otros transportadores empleados en otras investigaciones, es que éste tiene un alto grado de presencia en la BBB.

Uno de los problemas encontrados fue la rápida actuación de las proteasas presentes una vez pasada la barrera, que degradaba la proteína en un tiempo medio de 30 minutos *in vitro*, lo que no permitiría que el medicamento actuase. En el trabajo al que nos referimos, se permutaron los aminoácidos de la cabeza y la cola y además se sustituyeron por otros sintéticos, que son imágenes especulares de los originales, consiguiendo alargar la vida media del péptido ya que las proteasas tardan más en identificar el compuesto y por tanto actúan más tarde. Para ello, metilaron el extremo amino terminal, lo que aumentaba su vida media a 12 horas. Más tarde crearon las versiones enantiómera y retroenantiómera, en las que cabeza y cola se hallaban permutadas, y esto permitía un margen de 24-48 horas hasta que la proteína era degradada completamente, ya que los D-aminoácidos no son reconocidos por las proteasas humanas. Este hallazgo, al que denominan de manera común “lanzaderas” o “ambulancias”, pretende conseguir que la eficacia de medicamentos aumente.

Para comprobar su funcionalidad realizaron distintas pruebas. Crearon un modelo *in vitro* de la BBB usando células endoteliales del cerebro bovino y astrocitos de rata en una membrana porosa. Llevaron a cabo distintos experimentos en los que comparaban las 3 versiones del péptido y el inicial para estudiar su permeabilidad y determinar la mejor versión. Se concluyó que el retro-enantio era la forma más efectiva ya que no competía con la transferrina.

Con objeto de demostrar la eficiencia del péptido retro-enantio para cruzar la BBB se unieron varios cargos al extremo N-terminal: Primero dos pequeñas moléculas (5(6)-carboxyfluorescein y L-Dopa) y una molécula mediana con un uso potencial en el tratamiento del Alzheimer. [H-a(NMe)f(d)2NaI-vlkk-NH<sub>2</sub>]. Ambas se anclaron directamente en el N-terminal del péptido en conjugación de fase sólida. Luego dos moléculas, en las que muchas copias del péptido se anclaron a las partículas mediante conjugación en disolución. La permeabilidad de estos compuestos unidos a la lanzadera era menor que la de la lanzadera libre, siendo la de los cargos medianos y pequeños similar a la de la transferrina.

Después se probó su eficacia uniendo Quantum Dots (QDs) en un ratón vivo. Se fotografió uniendo al péptido una nanopartícula carboxyfluorescente, y se demostró que



aunque el QDs no penetra en la BBB por sí solo, sí lo hacía cuando se unía al péptido. Para asegurarse, hicieron el mismo experimento tras el sacrificio del animal y resultó que se confirmaba la presencia del QDs en el tejido cerebral cuando estaba unido al péptido y la capacidad del retro-enantio de mediar el transporte de moléculas a través de la barrera. Por último se comparó la eficacia del retro-enantio con el inicial. Al principio parecían iguales, pero después de 4-8 horas la concentración de unidos al retro-enantio era considerablemente mayor que la del inicial. Este trabajo es un gran adelanto en la lucha contra las enfermedades del cerebro, las más temidas actualmente. En la actualidad se está tratando de introducir en el cerebro un anticuerpo monoclonal que incluye una copia de la lanzadera en el fármaco para combatir el glioblastoma. Se trata de uno de los peores tumores cerebrales, en el que se han observado cambios estructurales en la barrera, como la pérdida de expresión de algunas proteínas y el descenso de la expresión de los transportadores, lo que disminuye la efectividad de los fármacos administrados. Otra de las enfermedades que podría tratarse empleando esta nueva aproximación experimental es la ataxia de Friedreich, una enfermedad rara que afecta al noveno cromosoma, en la que intentan crear un virus que atravesase la BBB, con el gen que se quiere modificar en las neuronas defectuosas. Por último en la enfermedad del Alzheimer se podría introducir acetilcolina mediante esta técnica, para restablecer los niveles que disminuyen a lo largo de la enfermedad, provocando la pérdida de memoria.

### CONCLUSIÓN

En este trabajo se han revisado diferentes métodos para poder atravesar la BBB, pasando por los físicos como la ruptura, hasta los bioquímicos, como el empleo de transportadores. Una de los más recientes y más alentadores es la desarrollada por el equipo del Dr. Enerst Giralt del IRB, que han diseñado un péptido resistente a la degradación en su forma de retroenantiómero que es capaz de, por transcitosis, atravesar el canal transportador de transferrina y por ello, atravesar la BBB. Ya se han unido distintas moléculas de tamaños diversos lo que da resultados esperanzadores, ya que además no parece provocar ningún tipo de toxicidad ni rechazo inmunológico. Estos avances abren nuevas puertas para la investigación en tratamientos para la cura de enfermedades neurológicas.

### BIBLIOGRAFIA

- Ambrosiani Fernández, J. (2007) visto el 16 de Marzo 2015, [http://personal.us.es/ambrosiani/Neuroanatomia\\_2007/intro9.htm](http://personal.us.es/ambrosiani/Neuroanatomia_2007/intro9.htm)
- Boer, A. G., & Gaillard, P. J. (2007). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47, 323-355.
- Cebrián, C. (13 de Septiembre de 2014). Visto 27 de Febrero 2015 <http://portal.unidoscontraelparkinson.com/investigacion-parkinson/1213-parkinson-y-la-barrera-hematoencefalica.html>
- Choi, J. J., Feshitan, J. A., Baseri, B., Wang, S., Tung, Y.-S. S., Borden, M. A., & Konofagou, E. E. (2010). *Biomedical Engineering, IEEE*, 57(1), 145 - 154 .
- Dash, P. (1997). (J. H. Byrne, Ed.) Visto el 27 de Febrero <http://neuroscience.uth.tmc.edu/s4/chapter11.html>
- DeMedicina.com. (s.f.). Visto el 16 de Marzo 2015 <http://www.dmedicina.com/enfermedades/neurológicas/alzheimer>
- DeMedicina.com. (s.f.). *Parkinson*. Visto el 3 de marzo de 2015 <http://www.dmedicina.com/enfermedades/neurológicas/parkinson>
- Glioblastoma. (2014). Visto el 1 de marzo de 2015, <http://www.glioblastoma.com.es/>
- Interlandi, J. (2011). Visto el 4 de marzo de 2015, <http://www.investigacionyciencia.es/files/7174.pdf>
- IQB. (13 de septiembre de 2014). Visto el 2 de marzo de 2015, de Diccionario Ilustrado de Términos Médicos: <http://www.iqb.es/neurologia/enfermedades/ataxiafriedrich1.htm>
- Lee, J. H., Engler, J. A., Collawn, J. F., & Moore, B. A. (2001). *European Journal of Biochemistry*, 268(7), 2004-2012.
- Loch-Neckel, G., & Koepp, J. (2010). *Revista de Neurología*, 51(3).
- Nácher Carda, V. (1995 ). Visto el 5 de marzo de 2015, de Universitat Jaume I: Primeres Jornades de Foment de la Investigació de la FCHS : <http://www.uji.es/bin/publ/edicions/jfi1/microglia.pdf>
- Pascual, J. M., González-Llanos, F., Prieto, R., Cerdán, S., & Roda, J. M. (2004). *Revista de Neurología*, 38(6), 565-581.
- Prades, R., Oller-Salvia, B., Schwarzmaier, S. M., Selva, J., María, M., Balbi, M., . . . Giralt, E. (4 de February de 2015). *Angewandte Chemie International Edition*, 54(13), 3967-3972 .





## PROTOCOLO PARA EL ESTUDIO DE LA RESPUESTA DE *ARABIDOPSIS THALIANA* L. A ESTRÉS HÍDRICO POR INUNDACIÓN

Navarro-Galiano, Alejandro; Hossain, Amir; Carrillo, Laura

Tutores: Vicente-Carbajosa, Jesús; Medina Alcázar, Joaquín

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA). Campus de Montegancedo, Universidad

Politécnica de Madrid (M-40, Km 38), 28223-Pozuelo de Alarcón (Madrid)

alexnavga@gmail.com; laura.carrillo.gil@gmail.com

### RESUMEN

La inundación es uno de los fenómenos naturales más perjudiciales para los cultivos agrícolas. En este trabajo se ha descrito un protocolo para el estudio de la inundación en *Arabidopsis thaliana* L., y cuyos estudios moleculares complementarios nos ayudarían a comprender los cambios fisiológicos que estas plantas modelo desarrollan para su adaptación al medio.

**Palabras clave:** estrés abiótico, inundación, hipoxia.

### INTRODUCCIÓN

Una de las consecuencias del cambio climático es la variación del ciclo hidrológico que genera importantes inundaciones en gran parte del mundo (Gassert *et al.*, 2013). El principal efecto de la inundación sobre los cultivos de plantas terrestres es una deficiencia en la disponibilidad de oxígeno o hipoxia, que causa cambios en el metabolismo de la planta induciendo la vía anaeróbica o fermentativa para asegurar su supervivencia (Jiménez *et al.*, 2012). De esta forma, los avances en la biotecnología agrícola cobran importancia a la hora de buscar, identificar y seleccionar plantas con una mayor tolerancia frente a este tipo de estrés. La importancia del uso de esta planta como modelo de estudio reside en la capacidad de analizar genes de otras especies de interés agronómico introducidos mediante técnicas de ingeniería genética (Clough y Bent, 1998).

El objetivo de este trabajo es el de detallar un protocolo que sirva como modelo para el estudio de la deficiencia de oxígeno provocada por inundación en *Arabidopsis thaliana* L., simulando en el laboratorio condiciones similares a las que ocurren en el campo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones de crecimiento: las semillas de *Arabidopsis* se siembran en una mezcla de turba:vermiculita en proporción 3:1 en bandejas con alveolos de 41x41x55 mm. Tras la siembra, se estratifican a 4°C en oscuridad durante 48 horas y posteriormente se llevan a una cámara de cultivo con condiciones controladas: 21°C por el día y 18°C por la noche, fotoperiodo de 10/14 horas de luz/oscuridad, una intensidad lumínica de 130  $\mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  y una humedad relativa del 65%.

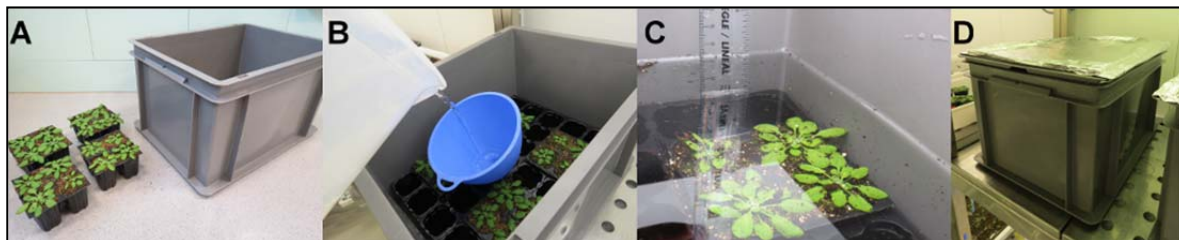
Tratamiento de inundación: se emplean plantas adultas de 4-5 semanas crecidas en tierra bajo las condiciones anteriormente citadas. Las plantas se colocan en cubetas de plástico opaco y se llenan de agua lentamente, hasta que el agua alcance una altura aproximada de 5 centímetros por encima de las rosetas (Imagen 1).

A continuación las cubetas de plástico se tapan para mantener la oscuridad durante el tratamiento. La finalidad de privar de luz a las plantas es la evitar que los brotes jóvenes crezcan hacia la superficie en busca de zonas con luz, fenómeno denominado crecimiento hiponástico (Millenaar *et al.*, 2005; Voeselek *et al.*, 2006). De otra forma se modificaría la morfología de la planta al curvarse y elongarse sus hojas y no se podría



determinar que el fenotipo observado es debido a la hipoxia ocasionada por la inundación. Además, de forma natural, la turbidez del agua tras una inundación en los campos impide que la luz llegue a la planta resultando en unas condiciones de casi total oscuridad.

### Imagen 1. Procedimiento para un ensayo de inundación



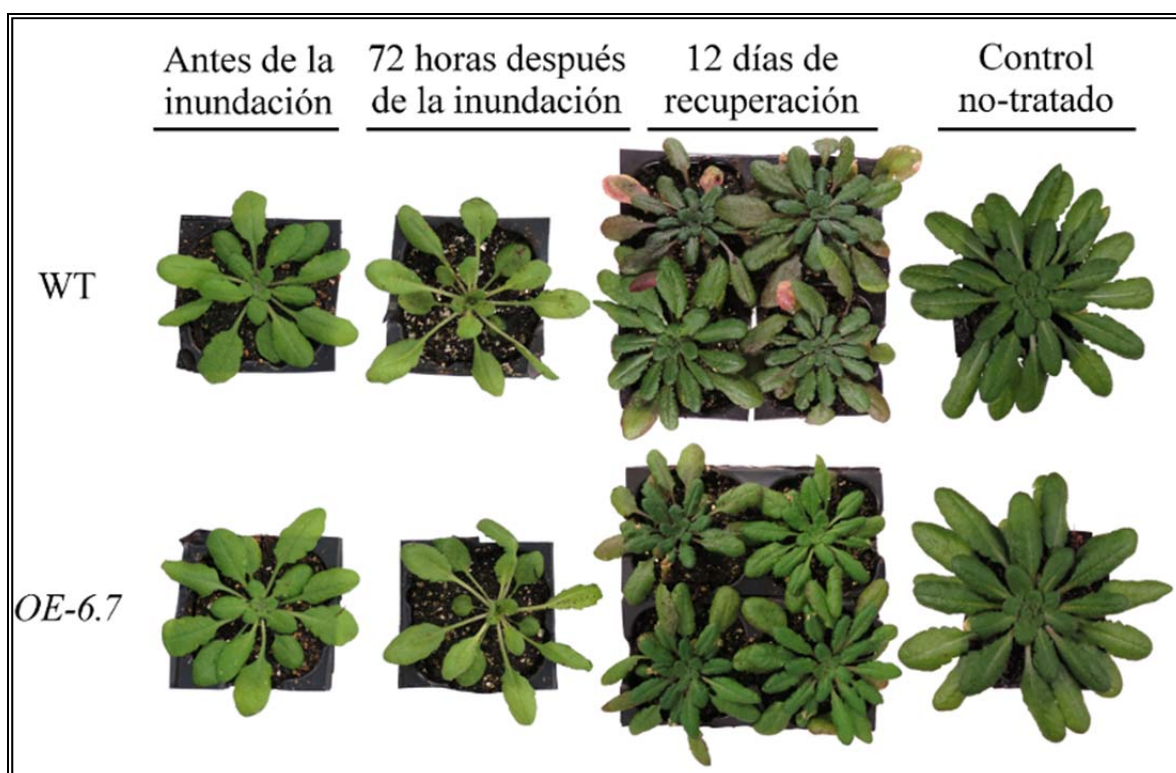
De izquierda a derecha: A) Las plantas de *Arabidopsis* se colocan en el interior de la cubeta. B) Se llenan las cubetas de agua lentamente. C) El nivel del agua debe de estar a 5 cm por encima de las rosetas. D) Se tapan las cajas y se mantienen en oscuridad.

La inmersión dura 72 horas, tras las cuales las plantas son transferidas de nuevo a condiciones de fotoperiodo de 10 horas de luz para su recuperación y posterior observación fenotípica. Se emplean tres cubetas de agua para la realización de experimentos independientes, y cuatro plantas por genotipo que vaya a ser sometido al tratamiento. Además se ha de tener en cuenta un grupo de plantas no-tratadas como control de las condiciones normales de crecimiento aeróbico.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después del tratamiento de inundación podemos observar diferencias fenotípicas entre dos líneas de *Arabidopsis* (Imagen 2): una variedad silvestre (WT) frente a una variedad tolerante al estrés hídrico (OE-6.7).

### Imagen 2. Plantas de *Arabidopsis* en diferentes tiempos del ensayo





Podemos ver cómo después de 12 días de recuperación las plantas de *Arabidopsis* WT que estuvieron sumergidas durante el tratamiento presentan una coloración rojiza y amarillenta en la hojas, en contraste con las hojas nuevas del centro de la roseta que se han desarrollado en los días posteriores.

Por su parte, la planta de *Arabidopsis* OE-6.7 presenta un fenotipo más tolerante a este tipo de estrés. Se puede apreciar que las hojas del exterior de la roseta presentan una coloración más verdosa y es mucho más similar a la de las plantas que han tenido un crecimiento aeróbico normal.

## CONCLUSIONES

El ensayo de inundación es una buena herramienta para el estudio de la adaptación de *A. thaliana* al estrés abiótico por encharcamiento. Nos permite observar el fenotipo de la planta tras el estrés y los cambios morfológicos de ésta. Pero además, posteriormente se pueden realizar: estudios a nivel de transcriptoma para determinar factores de transcripción involucrados en el proceso de adaptación (Licausi *et al.*, 2011); del proteoma, como el estudio de las vías de transducción de señales o de regulación hormonal (Komatsu *et al.*, 2011); u otros procesos bioquímicos propios del metabolismo anaeróbico (Ismond *et al.*, 2003) y así caracterizar los cambios moleculares que está desarrollando la planta para su adaptación al medio.

## AGRADECIMIENTOS

A los tutores, el Dr. Jesús Vicente Carbajosa y el Dr. Joaquín Medina Alcázar por darme la oportunidad de participar en este congreso; al Dr. Amir Hossain por iniciar la metodología empleada en este trabajo; y especialmente a la Dra. Laura Carrillo Gil por su colaboración y ayuda otorgada en la realización de éste.

## BIBLIOGRAFÍA

- Clough S.J., Bent A.F. 1998. *Plant J.*, 16(6): 735-43
- Gassert F., Landis M., Luck M., Reig P., Shiao T. 2013. "Aqueduct Global Maps 2.0." Working Paper. Washington, DC: World Resources Institute. Disponible en: <http://www.wri.org/publication/aqueduct-metadata-global>
- Ismond K.P., Dolferus R., De Pauw M., Dennis E.S., Good A.G. 2003. *Plant Physiol.*, 132: 1292-1302
- Jiménez J.C., Moreno L.P., Magnitskiy S. 2012. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.*, 6(1): 96-109
- Komatsu S., Hiraga S., Yanagawa Y. 2011. *J. Proteome Res.*, 11: 68-78
- Licausi F., Weits D.A., Datt Pant B., Scheible W., Geigenberger P., van Dongen J.T. 2011. *New Phytol.*, 190: 442-456
- Millenaar F.F., Cox M.C.H., de Jong van Berkel Y.E.M., Welschen R.A.M., Pierik R., Voesenek L.A.J.C., Peeters A.J.M. 2005. *Plant Physiol.*, 137: 998-1008
- Voesenek L.A.C.J., Colmer T.D., Pierik R., Millenaar F.F., Peeters A.J.M. 2006. *New Phytol.*, 170: 213-226





## RESILIENCE IN THE AYMARA COMMUNITY OF PUNO (PERU)

Rivera, María; García, Carmen

Tutores: Sastre, Susana; Cazorla, Adolfo

*Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*  
*maria.rivera.mendez@alumnos.upm.es, carmen.garciaf@alumnos.upm.es*

### ABSTRACT

Resilience is a term that has risen in popularity with policy makers in the last couple of years, based on the recognition that social systems need to be able to cope with change. Within various scientific domains, resilience has evolved into conceptual frameworks for understanding how complex systems (e.g. an ecosystem, a community) buffer shocks and change over time. The focus is thus always on the interplay between persistence and transformation; emphasizing non-linear dynamics, uncertainty and surprise. These concepts have been applied to the study of a community of Aymara women in Puno (Peru). This community has been participating in a project together with GESPLAN research group since 2007. Through a qualitative approach, resilience is analyzed in terms of persistence and transformation, in order to know whether the project is contributing to improve their lives while keeping their culture and traditions.

**Key words:** *Aymara communities, resilience, social learning*

### INTRODUCTION

Resilience in its everyday sense, refers to the ability to recover quickly from adversity, or explained in a different way, the ability to "bounce" (Alexander, 2013). Currently, within certain scientific fields, resilience has been used as a conceptual framework that helps to understand how complex systems (i.e., an ecosystem, a community) buffer the effects of the crisis and change over time. Therefore, it focuses on the interaction between persistence and transformation.

The scientific concept of resilience in ecological sciences owes much to the theoretical work of CS Holling (1973), which was later improved by various researchers of the "Resilience Alliance". It is based on the concept of socio-ecological systems (SES). The concept of SES "reflects the idea that human action and social structures are integral to nature and hence any distinction between social and natural system is arbitrary" (Agder 2006:268). In other words, in the context of the SES, resilience means more than the ability to recover from adversity, it includes the ability to adapt (Walker et al. 2002) and transform (Walker et al. 2004). In this context, resilience is defined as "the capacity of a system to absorb disturbance and reorganize while undergoing change so as to still retain essentially the same function, structure, identity and feedbacks" (Walker et al 2004:4). While this definition may seem abstract, its meaning distinguishes between three aspects: persistence, adaptability and transformation (Walker et al 2004, Folke et al 2010): 1) Persistence refers to the ability to absorb the impact and maintain its function; 2) Adaptability refers to the ability to cope with challenges or difficulties, including both uncertainty and surprise (it involves the capacity for renewal, reorganization and change), and 3) the concept of transformation capacity refers to a radical change, the ability to create a fundamentally new system. Learning also seems to be central for resilience. The concept includes social and individual learning as deliberation is often considered a critical process for obtaining a resilient system (Lloyd et al. 2013). Davoudi et al. (2013) therefore propose to add learning into the resilience concept as new conceptual framework.

The aim of this paper is to analyze the impact of a project started in 2007 and led by GESPLAN group (UPM) in the resilience of an Aymara women community located in Puno, particularly on the already established organisation "Coordinadora de Mujeres



Aymaras" (CMA) using the conceptual framework described above. The organization was established in 1982. In the region, natural resources are not exploited optimally, poverty is one of the highest in the country and development is minimal. Some causes of these features are the extreme temperatures and the altitude (SENAMHI, 2009), communication and transportation problems, low technological level in agriculture, poor irrigation systems (Arias and Polar, 1991) as well as unfavorable markets (Forstner, 2012). Sheep and alpaca wool production, livestock breeding and potatoes, quinoa and barley growing are the backbone of the economy of this region (Cazorla et al., 2010). Women dominate the textile production and they unite to try to find international markets in order to avoid intermediaries and obtain higher prices for their products. Within families, the husband's salary represents 65% of the family's income and 29% comes from handicrafts. Agriculture and livestock represent only a small percentage (Sastre Merino et al. 2013). The project aimed at getting women to lead their own development, refocusing its business activities to improve their marketing and providing technical training to increase their business knowledge. Gesplan acted as a promoter of the idea, using a Working With People methodology (Cazorla et al; 2013) that considers social learning an integrating element. Furthermore, they acted as relational capital as they helped the CMA to get in touch with technical expert organizations such as "Design for Development". Currently the CMA is divided into 6 districts (Huancané, Moho, Vilquechico, Platería, Chucuito and Juli) and consists of 400 women organized in 22 groups. This project has given rise to a deep research on capacity building, however a social project such as this one is extremely interesting to study from a resilience point of view, as only through achieving resilience, these women will be able to maintain or improve their live quality through time.

## METHODS

The methodology consisted of a review of all project information available from the following sources: governmental reports on the context of the area, key informant interviews to the 5 members of the technical team and to 8 leaders of the organization (see Sastre-Merino (2014) for a complete description of the methodology), participant observation, 144 semi-structured interviews to Aymara women carried out in 2010 and 106 in 2012 and seven participatory workshops (four in 2007 and three in 2012) the empowerment evaluation methods developed by Fetterman (2000). The results from these sources are classified into the four categories described above that make up the concept of resilience: persistence, adaptability, transformability and learning.

The methodology consisted of two phases: the first step included an analysis of the information included in the doctoral thesis by Sastre-Merino (2014) with a focus in the four categories described above that make up the concept of resilience: persistence, adaptability, transformability and learning. The information that was analyzed consisted of governmental reports on the context of the area, key informant interviews to the 5 members of the technical team and to 8 leaders of the organization, participant observation during one month in 2011 and 2012, 144 semi-structured interviews to Aymara women carried out in 2010 and 106 in 2012 and seven participatory workshops (four in 2007 and three in 2012) through the empowerment evaluation methods developed by Fetterman (2000). The second step included two interviews to project team members, to triangulate the information of the first step.

## RESULTS

The results of the analysis were classified according to the three aspects of resilience based on Walker (2004) and Folke (2010) together with Davoudi's (2013) learning concept.

**Table 1. Project's contribution to enhancing Aymara's women's resilience**

|                       | <b>Persistence</b>   | <b>Adaptability</b>   | <b>Transformability</b>  | <b>Learning</b>  |
|-----------------------|--|---|--|--|
| <b>Before project</b> | Strong women able to overcome problems: extreme weather conditions, men's migration, political and domestic violence | The diversity of activities they carry out (livestock farming, crafting for tourists etc.) allow them to adapt to circumstantial problems   | Good quality crafting for tourists but low number of different products that never changed through time  | Knowledge achieved through informal means: their own experience, parents and grandparents, other women...  |
| <b>After project</b>  | Stronger women with improved skills that now receive a proper living wage for their work                             | New activity created through which they obtain much better prizes for their work by opening up to the international market. If one activity/strategy fails, they have alternatives to keep them going | To reach new markets, techniques, tools and materials used had to improve as well as the production, duration, and marketing mechanisms. A quality control committee was created | Training workshops were conducted on techniques such as weaving, ironing, coating, presentation, sizes, etc. They also attended courses on business management, quality control and leadership |

**Persistence:** The CMA has remained united over 30 years. During that time they have faced multiple shocks: the expansion of the activities of the CMA caused them to be victims of political violence during the 80s and 90s; the extreme climate of the area causes women to suffer frequently from frost and droughts, leading to low productivity of the land; furthermore, they live in a sexist context in which many suffer domestic violence motivated by the fact that husbands do not approve of women working outside the home. On the other hand, the strong male migration forces them to fight and move forward based on their effort and personal sacrifice to improve their family's situation. The project has had influence by enhancing their own activity, instead of trying to change it. Women learn to spin and weave from a small age while caring for livestock or performing other activities. The project was defined based on their own skills and interests during the initial workshops, and their activity was boosted so they could receive a living wage for their work.

**Adaptability:** Women are adapting to a new organisation idea, more business-like, but without abandoning the social function of supporting women. This is a challenge for them, as it involves finding a balance between persistence and transformation. Women perform multiple activities throughout the year. Most of them work and some have farm animals. Moreover, they not only weave for the CMA (aimed at a top market level, with the best quality wool) but many sell directly from market stalls, through intermediaries, or sometimes for other organizations, but with lower quality (synthetic wool and low prices) directed to different customers. Diversity, in this case, obtained through the use of new materials and selling to new international markets, strengthens the resilience of the organization, as if any of the strategies fails, they have alternative that keeps them afloat. The project aims to combine the knowledge of the technical team with the experience of the women, and thus, women little by little own all business processes.

**Transformability:** In relation to production processes, 66% of women claimed to improve the quality of their products, so it was necessary to adjust the techniques, tools and materials used as well as the production, duration, and marketing mechanisms, and create a quality control committee. The new organizational model also relied on the use of new technologies such as mobile phones which significantly improved communication; creating a website that contains product catalogs; and new marketing methods.

**Learning:** Learning can be a costly and lengthy process but it brings women closer to reality (Cazorla et al, 2007; Negrillo et al, 2011). Training workshops were conducted on techniques such as weaving, ironing, coating, presentation, sizes, etc. They also attended courses on business management, quality control and leadership. Initially the type of training was selected by the technical team. However, the ladies have now developed their own internal training system and they select the trainers according to their needs.



This acquired knowledge was replicable to other areas and is transmitted from women to children to ensure intergenerational equity. These processes were carried out from a bottom-up approach ensuring the coverage of the women's real needs and the project success.

## CONCLUSIONS

Prior to starting this project, Aymara women were already organized, working with their own internal rules and overcoming various obstacles they faced along the way, that is, they were already resilient. Therefore, this project led by GESPLAN undertook to reorient the project and contribute new factors that increase their resilience and improve their quality of life starting with a change of mentality in women, diversifying its sources of income, providing technical training in different areas of product processing, among others. So we were able to keep improving their quality of life and of their families throughout the year.

## BIBLIOGRAPHY

- Agder, W.N., 2006. Vulnerability. *Global Environmental Change* 16: 268–281.
- Alexander, D.E., 2013. Resilience and disaster risk reduction: An etymological journey. *Natural Hazards and Earth System Sciences* 13: 2707–2716.
- Arias, A., & Polar, O., 1991. *Pueblo aymara: realidad vigente*. Cusco: Instituto de Pastoral Andina.
- Cazorla, A., De los Ríos, I., & Salvo, M., 2007. *Desarrollo rural: Modelos de planificación*. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. Madrid: Ediciones Mundiprensa.
- Cazorla, A., De los Ríos, I., Hernández, D., & Yagüe, J., 2010. *Working With People: rural development with aymara communities of Peru. International Conference on Agricultural Engineering*. France: Clermont-Ferrand.
- Darnhofer, I., J. Fairweather, H. Moller, 2010. Assessing a farm's sustainability: Insights from resilience thinking. *International Journal of Agricultural Sustainability* 8: 186–198.
- Davoudi, S., E. Brooks and A. Mehmood, 2013. Evolutionary resilience and strategies for climate adaptation. *Planning Practice and Research* 28: 307–322.
- Fetterman, D.M., 2000. *Foundations of Empowerment Evaluation: Step by step*. Thousand Oaks. California: Sage Publications.
- Folke, C., S. Carpenter, B. Walker, M. Scheffer, T. Chapin, and J. Rockström, 2010. Resilience thinking: integrating resilience, adaptability and transformability. *Ecology and Society* 15(4): 20. <http://www.ecologyandsociety.org/vol15/iss4/art20/>
- Forstner, K., 2012. Women's group-based work and rural gender relations in the southern Peruvian Andes. *Bulletin of Latin American Research*.
- Holling, C.S. 1973. Resilience and stability of ecological systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4: 1–23.
- Lloyd, M.G., D. Peel, R.W. Duck, 2013. Towards a social-ecological resilience framework for coastal planning. *Land Use Policy* 30: 925–933.
- Negrillo, X., Yagüe, J. L., Hernández, D., Sagua, N., 2011. El Aprendizaje social como modelo de planificación y gestión de proyectos de desarrollo: La Coordinadora de Mujeres Aymaras. 15th International Congress on Project Engineering. Huesca.
- SENAMHI, 2009. *Reporte anual del clima por regiones*. Perú: Edición regional del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrografía.
- Sastre-Merino, S. 2014. Tesis Doctoral: Desarrollo de capacidades para el liderazgo en proyectos de desarrollo rural. Aplicación a comunidades aymaras. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid
- Sastre-Merino, S., Negrillo, X., & Hernández-Castellano, D. 2013. Sustainability of Rural Development Projects within the Working With People Model: Application to Aymara Women Communities in the Puno Region, Peru. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, 10 (70), 219-243.
- Walker, B., C.S. Holling, S. Carpenter, and A. Kinzig, 2004. Resilience, adaptability and transformability in social-ecological systems. *Ecology and Society* 9(2): 5. <http://www.ecologyandsociety.org/vol9/iss2/art5>
- Walker, B., S. Carpenter, J. Anderies, N. Abel, G. Cumming, M. Janssen, L. Lebel, J. Norberg, G.D. Peterson, and R. Pritchard, 2002. Resilience management in social-ecological systems: A working hypothesis for a participatory approach. *Conservation Ecology* 6(1) [www.consecol.org/vol6/iss1/art4](http://www.consecol.org/vol6/iss1/art4)





## PROYECTO CÁTEDRA BANCO DE ALIMENTOS-UPM

Martín, Álvaro; Castaño, Javier; Comas, Marina

Tutora: Sastre, Susana

*Departamento de Ingeniería Agroforestal. ETSI Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.  
proyectos.catedraba@gmail.com*

### ABSTRACT

The Chair of Food Banks UPM arises from a cooperation agreement between the Spanish Federation of Food Banks (FESBAL) and the Polytechnic University of Madrid (UPM). The Chair's purpose is raise awareness and promote rational food consumption to avoid food waste, through activities of training, transfer of knowledge and promotion of I+D+i. The aim of this paper is to present the activities carried out by the Chair and its results, in order to obtain dissemination of a rational food consumption and awareness of its function.

**Keywords:** *Chair of Food Banks UPM; rational food consumption; dissemination*

### RESUMEN

La Cátedra Banco de alimentos surge a partir de la colaboración de la Federación Española de Bancos de Alimentos (FESBAL) con la Universidad Politécnica de Madrid. La cátedra pretende concienciar y promover el consumo racional de alimentos a través de actividades de formación, transferencia de conocimiento y fomento de la I+D+i. El propósito principal de este artículo es exponer las actividades realizadas por la Cátedra y cuáles son sus resultados, para difundir la importancia de un consumo racional y dar a conocer su función.

**Palabras clave:** *Cátedra Bancos de Alimentos; consumo racional; concienciar*

### INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una gran problemática a nivel mundial ya que se prevé que en los próximos años haya un incremento de demanda de alimentos propiciada por el aumento de la población y su consumo. Ante este incremento de demanda, la producción agraria debería incrementarse por lo menos un 70% (FAO 2012), a sabiendas que, según un estudio de la Comisión Europea, se derrochan un 50% de los alimentos producidos. Con dicha cantidad de desperdicios, se podría combatir la falta de recursos de una gran parte de la población.

Haciendo frente al despilfarro no sólo se solventaría el problema ético y nutricional que supone, sino que supondría una reducción del impacto ambiental ya que se utilizarían de manera eficiente los recursos naturales finitos como agua, suelo, recursos marinos, etc. Así como también se reduciría la contaminación por el uso de pesticidas y abonos nitrogenados, transporte, empaquetado, producción de residuos y gases de efecto invernadero.

Según la estimación del *BIO Intelligence Service* y la Comisión Europea (2010), un 42% del despilfarro de alimentos proviene de los hogares, de los cuales un 60% sería evitable. Ante esta situación, es necesario un plan estratégico para reducir el despilfarro, ya que con su tercera parte se podría alimentar a más de la mitad del planeta según la FAO (2012).

De esta forma, el interés en solventar el problema y reducir las pérdidas y desperdicios de comida es cada vez mayor y suscita actuaciones a nivel de gobiernos e instituciones. En el contexto descrito, la Federación Española de Bancos de Alimentos crea, junto con la Universidad Politécnica de Madrid, la Cátedra Bancos de Alimentos-UPM, tienen como objetivo concienciar a la población de un consumo razonable, minimizando así el despilfarro de alimentos actual. La Cátedra tiene varias líneas de actuación, incluyendo la concienciación a nivel escolar y universitario, la difusión del consumo racional en redes sociales, y la realización de investigaciones y cooperación con las empresas involucradas en el sector agroalimentario.



## METODOLOGÍA

Ante la falta de conocimiento que hay entre la sociedad y la población sobre el desperdicio de alimentos, la Cátedra Bancos de Alimentos ha decidido unirse a la causa intentado entre otros proyectos concienciar a la sociedad. Un claro ejemplo de despilfarro entre la población joven-adulta es la falta de práctica a la hora de reutilizar y aprovechar alimentos en la cocina.

Ante esta problemática, la Cátedra se ha marcado como objetivos la colaboración con FESBAL en actividades de docencia, generación de conocimiento, difusión y transferencia de tecnología en el área de alimentación humana. Cabe destacar que ante la falta de concienciación entre los más jóvenes, se ha optado que las vías de acción sean en colegios y en el ámbito universitario.

Para la consecución de esos objetivos, la Cátedra desarrolla distintas actividades programadas: prácticas curriculares, premios a Trabajos Fin de Carrera y Fin de Máster, actividades para movilizar y sensibilizar sobre el buen uso de alimentos, así como presentación de algunas ofertas de prácticas en empresa.

A través de las prácticas se ha pretendido conseguir una estrategia de sensibilización que tenga influencia en los más jóvenes. Dicha estrategia consiste en formar a tres equipos de trabajo interrelacionados entre sí, cuyo objetivo es el mismo; difusión de un consumo racional, pero en áreas de trabajo diferentes. Para llevarlo a cabo se han ofertado 12 prácticas curriculares, cuyos integrantes se han dividido en los distintos bloques.

### Bloque I: Difusión del consumo racional en las redes sociales.

Los responsables del bloque I se encargan de llevar un control de las redes sociales de la cátedra procurando un alto nivel de actividad. Actualización constante de Facebook y Twitter difundiendo noticias importantes y relacionadas con los objetivos de la Cátedra. También llevan un estudio de las fuentes de información y de los mecanismos de obtención y canalización de las noticias. Además de participar en las campañas de sensibilización en colegios y en campañas eventuales.

### Bloque II: Planificación de proyectos vinculados a la difusión del consumo racional en colegios institutos.

Los responsables de este bloque se encargan de buscar entidades educativas, ya sea colegio e institutos interesadas en participar en la campaña por un consumo más racional. Además desarrollan los contenidos orientados a alumnos de 1º y 2º de la ESO y los contenidos para alumnos de Bachillerato.

También se encargan de desarrollar notas de prensa e informes en relación con las campañas educativas. Además participan en las campañas de sensibilización en colegios y otras campañas eventuales.

### Bloque III: Planificación de proyectos para la difusión del consumo racional mediante campañas específicas y de movilización social.

Las funciones de los integrantes de este bloque son planificar las acciones culturales-formativas a nivel de profesionales de empresas agroalimentarias. Así como planificar acciones culturales, tales como conferencias y seminarios, entre universitarios para difundir el consumo racional.

Dan apoyo en la organización de campañas de recogida del Banco de Alimentos, aparte de proporcionar colaboración en las campañas organizadas por la Cátedra Bancos de



Alimentos. Además, y como en los bloques anteriores, participan en las distintas tareas de sensibilización en colegios y en campañas eventuales.

## RESULTADOS DE LAS PRÁCTICAS

Las prácticas empezaron el mes de febrero y finalizan en junio, los resultados que se han conseguido son meramente orientativos.

El bloque I ha conseguido tener más presencia en los medios y atraer e interaccionar con un público mayor gracias a su estrategia de expansión en las redes sociales. También está en constante búsqueda de documentación relacionada con la filosofía de la cátedra.

Por otra parte, está en marcha el lanzamiento de concursos, así como la elaboración de dos publicaciones. Una de ellas será una guía de consejos para evitar el despilfarro de alimentos. Otra publicación, será un recetario con toda la recopilación de recetas cocinadas a partir de “sobras”.

En cuanto al bloque II, han seguido con la estrategia educativa en centros de enseñanza primaria. En esta etapa de las prácticas ya han colaborado con cinco colegios y está previsto una programación de 10 visitas de aquí a finales del curso 2014-2015.

La campaña llevada a cabo está orientada hacia niños de quinto y sexto de primaria. El programa se divide en tres partes, una dinámica inicial, una presentación con los objetivos (principalmente concienciar sobre el despilfarro) y una dinámica final en relación a la presentación.

Por otra parte el bloque III, se ha centrado en dos vías para difundir a un mayor número de personas la idea de un consumo racional. Por una parte, seguir con la dinámica de los colegios y por la otra centrarnos en la comunidad universitaria. Como han demostrado en las encuestas, es preocupante el desconocimiento de la situación por parte de los más jóvenes y es necesario concienciar sobre el problema.

De esta forma, con el fin de potenciar y hacer llegar a más gente el fomento de un consumo racional y la concienciación sobre el despilfarro de alimentos, desde el equipo de Campañas de la Cátedra Bancos de Alimentos-UPM se ha desarrollado el siguiente proyecto: la conjunción de todas las finales de las ligas internas de fútbol sala de las distintas escuelas de la Universidad Politécnica de Madrid en una sola jornada de finales, toda ella llevada a cabo por la Cátedra. Además de la disputa de las distintas finales, se van a establecer una serie de actividades dentro de esa jornada con el fin de hacer llegar a los asistentes los objetivos que promovemos. Estas actividades son: (i) Establecer un puesto de información acerca de la Cátedra y de los bancos de alimentos, donde se repartan dípticos informativos y se puedan apuntar como voluntarios aquellas personas que estuviesen interesadas. (ii) Montar un pequeño circuito de carreras de Scalextrix para todos aquellos que mientras no estén jugando puedan conocer las actividades de los bancos y (iii) poner un puesto de batidos en el cual se ofrezcan o se vendan productos elaborados a partir de frutas ecológicas.

## CONCLUSIONES

Desde la Cátedra Bancos de Alimentos creemos que la mejor forma de llegar a conseguir concienciar a la sociedad es empezar desde abajo, es decir desde los más pequeños hasta los más adultos porque representan el futuro y a la hora de adquirir hábitos y conciencia resulta de gran importancia.



Las campañas realizadas están bastante relacionadas con la actualidad. Hoy en día, cualquier tema para que alcance la mayor difusión posible debe estar presente en las redes sociales. Tanto Facebook como Twitter son dos poderosas plataformas que permiten llegar a un gran abanico de personas. Así que el trabajo realizado por el equipo que forman el Bloque I es de gran importancia manteniendo en constante actualización la información y difundiendo el mensaje de la cátedra.

Por otra parte, si se quiere llegar a un público más joven es necesario llevar a cabo una campaña de concienciación adaptada a los más pequeños, una campaña que sea dinámica y novedosa como la llevada a cabo por el colectivo del bloque II. También la campaña universitaria está enfocada desde ese punto de vista. Se ha querido crear una campaña dinámica y diferente para captar la mayor atención posible. Se ha optado por una final de las ligas internas porque creemos que a partir del deporte se consigue promover el intercambio sociocultural, que pasa a través de la participación de la práctica y de los eventos deportivos y, que en ese contexto, se promueven también los valores humanos y universales, como la disciplina, el sentido del equipo y de colectividad, la solidaridad, la comprensión y la tolerancia.

*Así pues, mediante acción y campañas dinámicas la Cátedra Bancos de Alimentos pretende llegar, difundir y concienciar a la sociedad de la necesidad de reducir los desperdicios. Teóricamente, reduciendo los desperdicios de las comunidades desarrolladas, disminuirá su demanda de alimentos. Al disminuir su demanda, por un lado pueden bajar los precios de los alimentos. Y por otro lado, parte de la producción actual puede ser desviada a comunidades deficientes en alimentos básicos sin aumentar la presión agraria sobre el globo.*

## REFERENCIAS

- Comisión Europea y BIO Intelligence Service, 2010. Preparatory Study on Food Waste across EU 27.  
Federación Europea de Bancos de Alimentos, FEBA. (Consultado el 9 de marzo de 2015). Disponible en: <http://www.eurofoodbank.org/>  
FAO, 2012. Global food losses and food waste. Congreso Internacional SAVE FOOD!  
Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad- Instituto Nacional del Consumo y HISPACOOOP, 2012. Estudio sobre el desperdicio de alimentos en los hogares.  
Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.  
Source Eurostat, 2012 Population and Social Condition: Income, social inclusion and living conditions.  
Congreso de estudiantes de Ciencia, Tecnología e Ingeniería Agronómica 2015 en la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola con la participación de AECOC.



## FOIE GRAS: ENTRE LA PRODUCCIÓN GANADERA Y LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Pérez Larrañaga, Bárbara

Tutora: Villamide Díaz, María Jesús

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*

*barbara.plarranaga@hotmail.com*

### RESUMEN

Este trabajo se ha extraído del proyecto elaborado para la creación de una explotación ganadera e industrial para la crianza de 3.200 patos *mulard* al año y la obtención de foie gras. Se han diseñado tres naves: una destinada a la cría, con una capacidad de 400 patos, otra al embuchado con capacidad de 200 patos y la última, a la industria para la elaboración de los productos. La nave de industria está formada por las salas de sacrificio, desplumado, extracción del hígado, cámaras refrigeradoras, sala tipo cocina y sala de elaboración y envasado de productos. Sólo se utilizan animales machos y su crianza es única, debido a la última fase del proceso, denominado embuchado o alimentación forzada. Durante este corto período, la elevada ingesta calórica hace que en doce días su hígado se multiplique por cinco y consiga la textura y sabor característicos del producto. La producción anual media prevista es de 1.650 kg de foie gras.

**Palabras clave:** Foie gras, producción animal, industria alimentaria.

### INTRODUCCIÓN

El foie gras (hígado graso) es considerado uno de los productos alimentarios más exquisitos y únicos del mundo, cuya producción se remonta a hace más de 4000 años en Egipto, y que más tarde se introdujo en poblaciones griegas, romanas y judías. Actualmente su producción se centra en Europa, con Francia en primer lugar con más del 70% del total mundial. La mayoría del foie gras se obtiene del pato *mulard*, híbrido de un macho Barbarie y una hembra Pekín, por ser el que aporta una producción más eficiente y de mayor calidad. Sólo se utilizan animales machos y su crianza es única, debido a la última fase del proceso, denominado embuchado o alimentación forzada. Durante este corto período, la elevada ingesta calórica hace que en doce días su hígado se multiplique por cinco y consiga la textura y sabor característicos del producto.

### DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

El objetivo del proyecto es una combinación entre la producción ganadera y la industria alimentaria y describe la creación de una explotación con las instalaciones necesarias para la cría de 3.200 patos *mulard* al año y la puesta en marcha del proceso productivo para la obtención del foie gras correspondiente, abarcando desde la llegada a la explotación de patitos de 1 día hasta el envasado de los productos del foie gras entre 15 y 17 semanas después.

Se pueden distinguir dos apartados fundamentales: por una parte la construcción de las naves y parques de cría así como las instalaciones industriales, y por otra los procesos productivos, tanto el ganadero como el industrial para la elaboración de los productos finales.

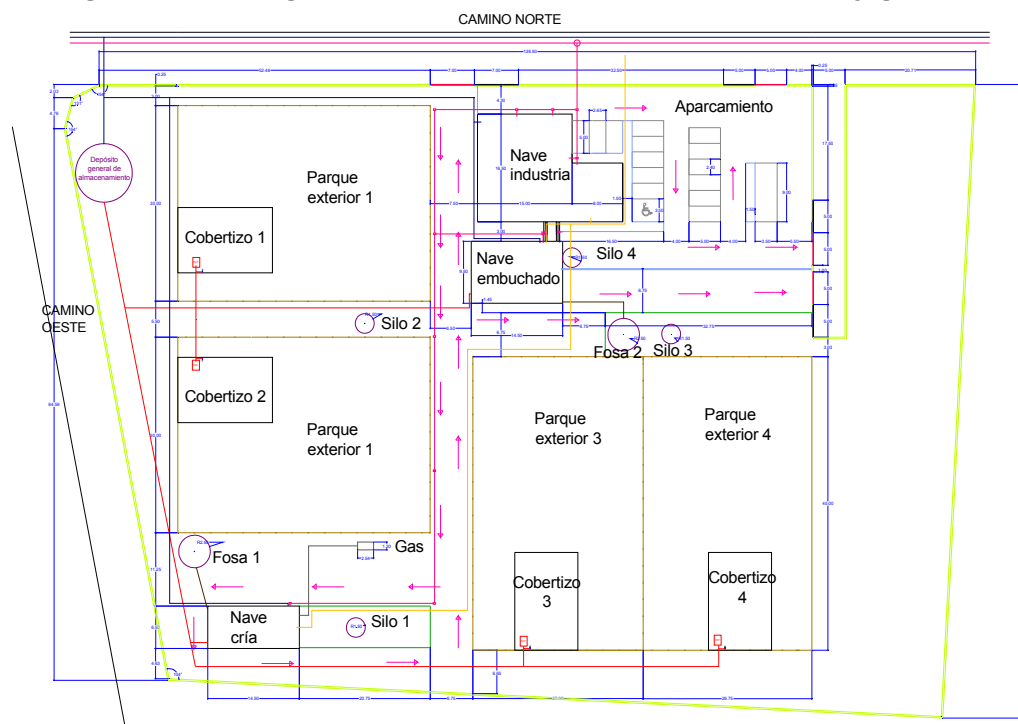
#### Construcciones

En lo que se refiere a las instalaciones, comenzando por la parte ganadera de la explotación, los principales cálculos técnicos corresponden a la construcción de tres naves, destinadas a la cría, embuchado e industria con 84, 126 y 317,25 m<sup>2</sup> respectivamente (Figura 1), con características especiales en función de la utilidad de cada una.



La nave de alojamiento de animales para cría tiene una capacidad de 400 patos y la de embuchado para 200 patos. Ambas cuentan con una zona de enrejillado y por tanto con fosos subterráneos que se unirán mediante conducciones a una fosa cada uno colocada junto a las naves. La nave de cría contará con una instalación de calefacción por gas con calefactores por radiación que facilitan la regulación de temperatura, esencial durante las primeras semanas de vida de los patitos. Ambas naves tienen un sistema de ventilación natural con ventanas a ambos lados de las naves y un caballete superior para la eliminación de los gases tóxicos y el exceso de vapor de agua debido a las deyecciones.

**Figura 1. Planta general de las instalaciones industriales y ganaderas**

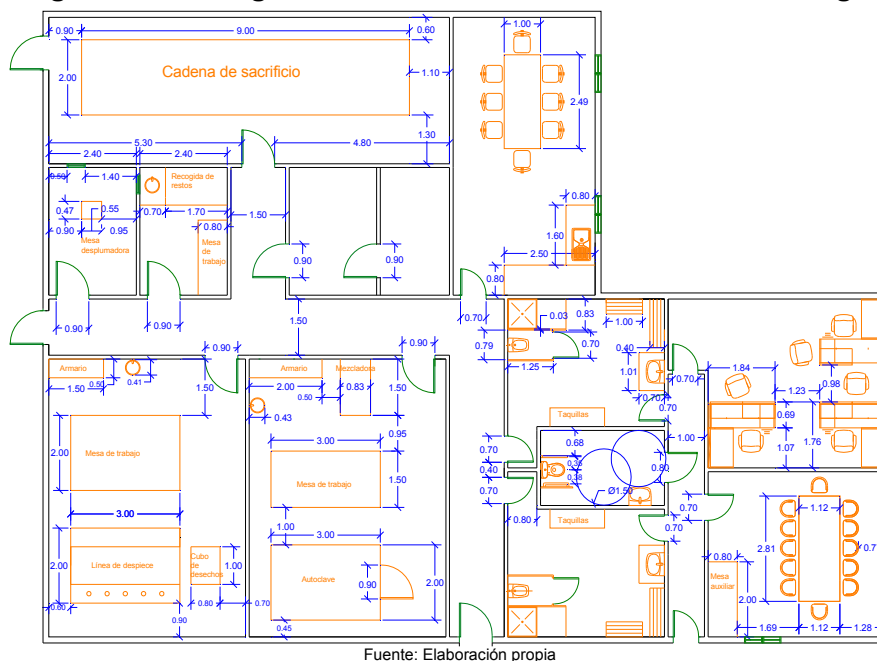


Fuente: Elaboración propia

Durante el período de recría las aves estarán en parques exteriores, por lo que será necesario construir cuatro parques con una superficie unitaria de 1.215 m<sup>2</sup>, una capacidad de 200 patos y un cobertizo cada uno para resguardarse. Se utilizarán alternativamente para dejar descansar el terreno, que será en parte de tipo arable y en parte forestal.

La nave de industria (Figura 2), que además está unida a una pequeña zona administrativa, está formada por las salas de sacrificio, desplumado, extracción del hígado, cámaras refrigeradoras, sala tipo cocina y sala de elaboración y envasado de productos. También hay una sala de descanso para los trabajadores. La zona administrativa cuenta con salas de oficina y de reuniones. Las zonas limpia y sucia están separadas por los aseos y vestuarios, de modo que el cambio de ropa contribuya a evitar posibles contaminaciones.

En las tres naves se han realizado todos los cálculos necesarios para la colocación de las instalaciones eléctrica, de iluminación y de agua, incluyendo en la nave de industria la instalación de saneamiento.

**Figura 2. Planta general de la industria alimentaria de foie gras**

Fuente: Elaboración propia

### Producción de pato

En cuanto al proceso productivo, se divide en dos partes, de igual importancia, que hacen que el resultado final sea el deseado: la cría de los patos y la elaboración de los productos. El proceso ganadero consta de cuatro fases: cría, recría, preembuchado y embuchado.

- La cría ocupa desde la llegada de los patitos a la explotación con 1 día de edad, hasta el final de la semana 4. Durante este tiempo, los patos se mantienen en la nave, con unas condiciones de temperatura y luz controladas. El objetivo es que los patos pasen de 100 g a algo más de 1 kg antes del siguiente período.
- La recría va de la semana 5 al final de la 8. Los patos han sido trasladados a parques exteriores, donde disponen de más espacio que les beneficia por tener que recorrer distancias más grandes para comer y beber, con lo que realizan más ejercicio, llegando más fuertes y sanos al embuchado.
- Desde la semana 9 a la 13 se denomina fase de preembuchado. Los patos se mantienen en los parques, y únicamente varía la alimentación respecto de la fase anterior. Se administra el pienso sólo durante 1 ó 2 horas diarias, cuyo objetivo es acostumar a los patos a ingerir grandes cantidades de alimento en poco tiempo para prepararlos al aumento de comida del embuchado, de esta manera se incrementará la capacidad del buche para la última fase. Se pretende obtener patos de 4,2 a 4,4 kg.
- El embuchado tiene una duración de 12 días, en alojamiento colectivo. Esta fase se realiza disminuyendo la temperatura de la nave a 8°C, para que los patos lo relacionen con el otoño, época en la que se sobrealimentan de manera natural con alimento hipercalórico para aguantar el largo viaje o migración hacia latitudes más cálidas. En este período, su hígado alcanza cinco veces su tamaño. Con esta técnica se espera alcanzar un peso medio de entre 500 y 550 g.

La alimentación varía en función de las necesidades de cada uno de los cuatro períodos. Durante los tres primeros se suministra pienso en forma de gránulo en cantidades crecientes. Lo que diferencia esta producción ganadera de otras es la alimentación en la etapa de embuchado. En estos doce días, antes de cada toma se prepara una pasta,



mezcla de maíz entero crudo, harina de maíz y agua en cantidades crecientes, en dos tomas diarias.

Tanto las instalaciones como el manejo de los animales están adaptados a las normas de bienestar animal fijadas por la Federación Internacional Euro Foie Gras. Estas normas tienen por objeto regular esta actividad, en el espíritu de los 12 principios adoptados en el "Welfare Quality Project" (Proyecto de calidad de bienestar).Elaboración de foie gras

En cuanto al proceso industrial alimentario, comienza al finalizar el embuchado con el sacrificio de los animales en el matadero. Se sacan los órganos y se aprovechan el hígado, el corazón y la molleja, desechando el resto y limpiando la canal. Estos órganos y la canal se introducen lo antes posible en la cámara de congelación a -35°C durante una o dos horas para bajar su temperatura rápidamente y evitar que el calor del propio animal facilite la descomposición de la carne. Más adelante se cambia de cámara a temperatura de 4°C para mantenerlo hasta que se extraiga para el envasado. En la tarde del día del sacrificio y a lo largo del día siguiente se elaboran todos los productos que se vayan a comercializar. Además de los productos derivados del foie gras se comercializa la carne del pato en sus diferentes piezas.

Dentro de los productos del foie gras, las elaboraciones posibles son diversas, y se pueden clasificar en función de la cantidad de foie gras que contengan y del tipo de conservación (Tabla 1). La selección en función de la calidad de los hígados es muy importante ya que de ello depende el producto final.

**Tabla 1. Productos del foie gras en función de su contenido y el tipo de conservación**

| Denominación                 | Contenido min foie gras | Otros componentes                     | Constitución y envase                 | Tratamiento térmico  | Vida útil   | Conservación |
|------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|-------------|--------------|
| Foie gras fresco             | 100%                    | Condimentos(*)                        | Entero                                | Ninguno              | 15 días     | Crudo        |
| Foie gras escaldado al vacío | 100%                    | Condimentos(*)                        | Entero en película retráctil          | Cocción a baja temp. | 4 semanas   | Semicrudo    |
| Mi-cuit                      | 100%                    | Condimentos(*)                        | Entero en tarrina o lata              | Cocción a 70-85°C    | 3 a 6 meses | Semiconserva |
| Foie gras no entero          | 100%                    | Condimentos(*)                        | Trozos aglutinados en tarrina         | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |
| Bloc                         | 100%                    | Condimentos(*)                        | Emulsión                              | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |
| Parfait de foie gras         | 75%                     | Condim.(*), hígado magro, grasa, agua | Mezcla o emulsión                     | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |
| Medallón de foie gras        | 50%                     | Condim.(*), picadillo(**) (exterior)  | Núcleo: foie/bloc<br>Exterior: Mezcla | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |
| Delice de foie gras          | 50%                     | Condim.(*), carne picada de cerdo     | Mezcla                                | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |
| Galantina de foie gras       | 35%                     | Condim. (*), picadillo(**)            | Mezcla                                | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |
| Mousse de foie gras          | 25%                     | Condim. (*), picadillo(**)            | Emulsión en mousse                    | Esterilización 110°C | 4 años      | Conserva     |

(\*)Condimentos: Sal y pimienta (\*\*)Picadillo: Producto elaborado a partir de uno o varios de los siguientes ingredientes: magro o grasa de cerdo, de ternera o de ave, hígado de cerdo, hígado de ave, grasa de exudación, huevos, leche, lactoproteínas, harina y almidón.

Fuente: Elaboración propia

## CONCLUSIONES

Tras el análisis realizado, se puede concluir que es posible desarrollar una instalación ganadera e industrial para elaboración de foie gras en España, económicamente autosuficiente.

## AGRADECIMIENTOS

A todos mis profesores de la ETSIA de la UPM que me han ayudado a llegar hasta aquí. Y especialmente a mi tutora M<sup>a</sup> Jesús Villamide Díaz, y a José Luis Marco Gutiérrez, por su apoyo desde el primer día que entré en sus despachos.

## BIBLIOGRAFÍA

Pérez Larrañaga, B. "Explotación de 3.200 patos *mulard* al año para la elaboración de foie gras en Ferrol". Universidad Politécnica de Madrid, E.T.S.I. Agrónomos, 2015.





## ESTUDIO SOBRE LA EFICIENCIA DE LA FIJACIÓN DE NITRÓGENO POR BACTERIAS QUE NODULAN LEGUMINOSAS EN CEBIO/VALE EN LA CIUDAD DE SABARÁ, MINAS GERAIS – BRASIL

Resende de Assis, Lucas Lenin; Freitas Costa, Patrícia  
Tutores: Azarias Guimarães, Amanda; Maria de Souza Moreira, Fátima  
Departamento de Microbiologia. Campus Universitário. Universidade Federal de Lavras.  
lucaslenin@agronomia.ufla.br; freitasc.patricia@gmail.com;

### RESUMEN

La fijación biológica captura el nitrógeno de la atmósfera aportando amonio al suelo. El objetivo del estudio fue comparar la eficiencia de la simbiosis con cepas de bacterias nodulíferas fijadoras de nitrógeno (NFLNB) presentes en diferentes tipos de cubierta vegetal: mata, cerrado, canga, eucalipto y capim. La eficiencia de la fijación de nitrógeno se evaluó mediante los datos de materia seca de sirato (*Macroptilium atropurpureum*) crecido en invernadero, en tubos con arena y vermiculita (1: 1). Comparando con controles utilizando alta (52,5 mg l<sup>-1</sup>) y baja dosis de N (5,25 mg l<sup>-1</sup>), resultando diferencias entre las comunidades: la más eficiente en la de capim, la menos eficiente en la de Mata.

**Palabras clave:** sirato, microbiología, suelo.

### INTRODUCCION

El proceso de fijación biológica del nitrógeno por bacterias fijadoras de nitrógeno nodulíferas (BFNNL) ocurre de forma natural con el objetivo de captar ese elemento de la atmósfera y convertirlo en amonio, compuesto asimilable por las plantas. Eso ocurre cuando no hay acumulación de oxígeno al entorno y cualquier producto industrial (abonos) es aplicado para ese fin. Es un proceso muy importante y complejo debido a la diversificación del suelo con sus microhábitats junto con la gran diversidad climática brasileña que presenta condiciones ambientales bastante diferentes. Como señala Magalhães *et al.* (1982), la disponibilidad de nitrógeno no solo es un factor limitador del proceso de fijación por bacterias, visto que esos suelos que pasan por un proceso con adición de abonos en altas concentraciones de nitrógeno no se muestran eficaces para la fijación biológica debido a la accesibilidad del nutriente para las plantas.

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia simbiótica de la comunidad, así como de estirpes de BFNNL presentes en cada una de las áreas estudiadas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en el Cebio/Vale, municipio de Sabará, centro-sudeste de Minas Gerais, Brasil; un área donde el clima es típicamente tropical con un corto período seco y otro marcadamente húmedo y con una temperatura media anual de 20°C. El suelo predominante es de clase Latossolo rojo-amarillento, de carácter distrófico, asociado al argissolo rojo-amarillento en una región de Mata Atlântica.

El área de estudio contiene diferentes cubiertas vegetales, son ellas: mata, cerrado, canga, eucalipto y capim, siendo esta última área de deposición de tierras retiradas de uno pozo minero. Se recolectaron, según el método propuesto por Moreira *et al.* (2010), donde fueron recogidas 12 submuestras simples en cada punto de evaluación que constituyeron la muestra compuesta de la que se analizó las características químicas, físicas y biológicas. En cada área se realizaron cuatro recolecciones totalizando veinte puntos de muestreo. Los experimentos fueron instalados en invernadero en el sector de



Microbiología del suelo (UFLA) para la obtención de estirpes de BFNNL usando sirato (*Macropitilium atropurpureum*), la cual se considera promiscua por nodular con diversos géneros.

Se utilizaron tubos de plantío, conteniendo una mezcla de arena y vermiculita (1v:1v) esterilizados con calor húmedo en autoclave (1 atm, 127°C, 1h). Las semillas pre-germinadas se plantaron (dos semillas por tubos) en los tubos de plantío y para la nutrición de la planta se utilizó la solución nutritiva de Hoagland e Arnon (Hoagland e Arnon, 1950) de acuerdo con las necesidades de la planta, generalmente cada 48h. Se utilizaron controles con la adición de alta proporción de nitrógeno mineral (52,5 mg.L<sup>-1</sup>), otro con baja proporción de nitrógeno mineral (52,5 mg.L<sup>-1</sup>) y controles utilizando las estirpes de referencia UFLA 04-0212 (ST212) y SEMIA656. A los 55 días de cultivo las plantas fueron recolectadas para la cuantificación de la materia seca de la parte aérea, raíz y nódulos, además del número de nódulos.

Los resultados fueron evaluados por análisis de variancia (ANOVA) usando el programa SISVAR versión 4.3 (Ferreira, 2011) para determinar la diferencia entre los tratamientos considerando un factor y efecto *post hoc* de los tratamientos evaluados por el test de Scott-Knott (Scott y Knott, 1974), con 5% de significación. Todos los tratamientos fueron testados por triplicado en un diseño completamente al azar. Considerando la eficiencia simbiótica, las estirpes fueron separadas en grupos, de acuerdo con la discriminación obtenida por el test de ANOVA. Siendo consideradas muy eficientes aquellas estirpes agrupadas juntamente con el control con alto valor de nitrógeno (N+) e ineficientes las que forman grupo junto con el control de baja cantidad de nitrógeno (N-). Las estirpes remanentes en los grupos intermedios fueron consideradas eficientes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 77 estirpes con una nodulación del 100% de las plantas cultivadas en suelo proveniente del área de capim, del 66,6% de nodulación en el área de mata, del 58,33% en cerrado, del 50% en el área conteniendo eucalipto y apenas un 16,7% de nodulación en el área de canga.

El número de nódulos obtenido en cada una de las áreas de estudio puede ser considerado una estimación de la densidad de BFNNL en el suelo, toda vez que cuanto mayor es la densidad de esas bacterias, más focos de infección se formarán en la raíz (Lima et al., 2009). De esta forma el área de capim sería el área con mayor densidad de BFNNL, diferenciándose de todas las otras áreas ( $p < 0,05$ ).

Los controles con alta y baja cantidad en nitrógeno no nodularon, indicando que las condiciones en que fue conducido el experimento fueron las adecuadas, no habiendo contaminación.

La eficiencia de la comunidad de BFNNL mostró resultados mayores en el área de capim, siendo el área con mayor eficiencia cuando consideramos las comunidades de BFNNL ( $p < 0,05$ ). La eficiencia de las otras áreas fue similar al control con baja cantidad de nitrógeno, indicando la ineficiencia de la comunidad (Tabla 1). La baja densidad de BFNNL en las áreas de mata, canga, cerrado y eucalipto pueden haber contribuido a la ineficiencia en la fijación biológica del nitrógeno.



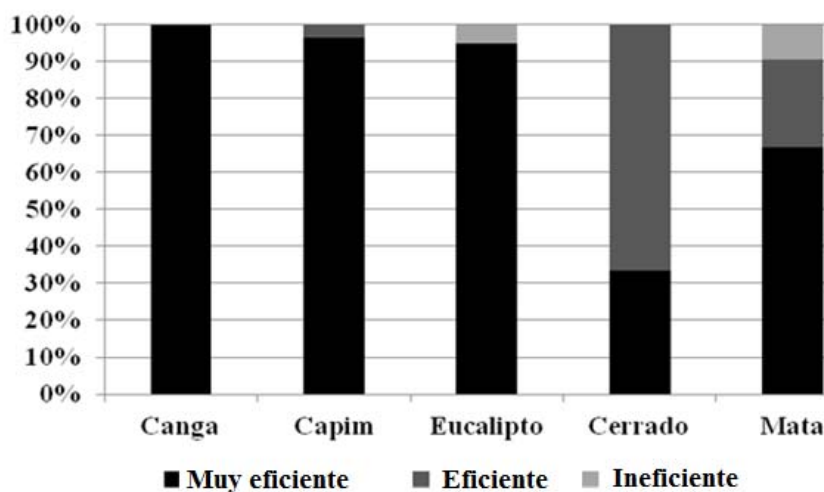
**Tabla 1. Valores medios de cuatro repeticiones para las variables: número de nódulos (NN), materia seca de los nódulos (MSN), materia seca de la parte aérea (MSPA), materia seca de la raíz (MSR) y eficiencia relativa (ER) de la comunidad de BFN de las áreas estudiadas, para sirato.**

| Tratamientos | NN <sup>1</sup> | MSN <sup>1</sup>                   | MSPA <sup>1</sup> | MSR <sup>1</sup> | ER <sup>1</sup> |
|--------------|-----------------|------------------------------------|-------------------|------------------|-----------------|
|              |                 | ----- g planta <sup>-1</sup> ----- |                   |                  | %               |
| Mata         | 11 b            | 0,009 b                            | 0,16 b            | 0,14 b           | 29,4 b          |
| Cerrado      | 9 b             | 0,006 b                            | 0,12 b            | 0,12 b           | 22,6 b          |
| Canga        | 4 b             | 0,004 b                            | 0,13 b            | 0,13 b           | 23,5 b          |
| Eucalipto    | 5 b             | 0,003 b                            | 0,14 b            | 0,12 b           | 26,7 b          |
| Capim        | 36 a            | 0,026 a                            | 0,28 a            | 0,15 a           | 51,0 a          |
| SEMIA 656    | 35 a            | 0,016 b                            | 0,25 a            | 0,11 b           | 46,0 a          |
| UFLA 04-212  | 54 a            | 0,040 a                            | 0,37 a            | 0,20 a           | 69,6 a          |
| -N           | 0 b             | 0 b                                | 0,11 b            | 0,12 b           | 19,9 b          |
| +N           | 0 b             | 0 b                                | 0,54 a            | 0,18 a           | 100 a           |

<sup>1</sup> Las medias de la misma columna seguidas de la misma letra no difieren entre sí, según el test Scott Knott al 5% de probabilidad.

Por lo que respecta a la eficiencia de las estirpes, las áreas de Canga y Capim fueron las que presentaron mayor tasa de estirpes muy eficientes mientras que el área de Cerrado fue la que presentó la menor tasa (Figura 1). A pesar de que la comunidad de área de Canga no haya revelado valores de eficiencia altos (Tabla 1) las estirpes presentaron buenos resultados en términos de eficiencia. Al evaluar la eficiencia de las estirpes aisladas se elimina el factor de competición entre estirpes diferentes, lo que podría comprometer la eficiencia cuando es evaluada en términos de comunidad. Cuando se encontró aislada, la estirpe tiene todo su potencial para fijar nitrógeno expresado, y de ahí la diferencia entre comunidades y estirpes aisladas.

**Figura 1. Análisis cuantitativo de la eficiencia relativa de estirpes de cada área de estudio (Canga, Capim; Eucalipto, Cerrada y Mata) utilizando sirato.**





## CONCLUSIONES

La eficiencia en la fijación biológica del nitrógeno fue distinta al considerar las comunidades y estirpes de BFNL en cada una de las áreas. El área de Capim fue la que presentó mayor eficiencia tanto en comunidad como en estirpes aisladas. Tal eficiencia puede haber sido influenciada por la densidad de BFNNL, que fue mayor (número de nódulos) en ese área.

## AGRADECIMIENTOS

La empresa Vale y FAPEMIG por lo soporte financiero. Al CNPq y Capes por la concesión de becas a los estudiantes de grado y máster, al CNPq por la beca de productividad en investigación de F.M.S. y a UFLA por la estructura puesta a disposición.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ferreira, D.F., 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e agrotecnologia*, 35, 6.
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.T. 1950. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley, University of California, (Circular, 347), 32.
- Lima, A. S.; Nóbrega, R. S. A.; Barberi, A.; Silva, K.; Ferreira, D. F.; Moreira, F. M. S. 2009. Nitrogen-fixing bacteria communities occurring in soils under different uses in the Western Amazon Region as indicated by nodulation of siratro (*Macroptilium atropurpureum*), 319, 127–145.
- Magalhães, F. M. M.; Magalhães, L. M. S.; Oliveira L. A.; Döbereiner, J. 1982. Ocorrência de nodulação em leguminosas florestais de terra firme nativas da região de Manaus-AM. *Manaus*, 12, 509-514.
- Moreira, F. M. S.; Huising, E. J.; Bignell, D. E., 2010. Manual de biología dos solos tropicais: Amostragem e caracterização da biodiversidade. Editora UFLA, 368.
- Scott, A.J. & Knott, M.A., 1974. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30, 507–512.



## EL PAPEL DE LA MUJER RURAL EMPRENDEDORA PARA LA SOSTENIBILIDAD DEL TERRITORIO. PROGRAMA JESTeR, ÁVILA

Pastor Carretero, Raquel<sup>1</sup>; López González, Miriam<sup>1</sup>; Vidueira Mera, Pablo<sup>1</sup>

Tutor: De los Ríos Carmenado, Ignacio<sup>1</sup>

Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

r.pastorc@alumnos.upm.es; miriam.lopez@upm.es; pablo.vidueira@upm.es

### RESUMEN

El papel de los jóvenes y, especialmente, de las mujeres cobra cada vez mayor importancia en los procesos de desarrollo rural. El objetivo de esta investigación es conocer las condiciones que favorecen la implicación de estos sectores de la población en el impulso de iniciativas emprendedoras que ayuden a dinamizar los territorios rurales. Este estudio se basa en el caso del programa *Jóvenes Emprendedores para la Sostenibilidad de los Territorios Rurales* (JESTeR), cuyo objetivo es fomentar el emprendimiento y el desarrollo en diecisiete municipios rurales de la provincia de Ávila. La metodología utilizada se basa en el modelo *Working With People*, desarrollado por el Grupo de investigación GESPLAN, y en sus tres componentes: político-contextual; ético-social y técnico-empresarial. Los procesos participativos llevados a cabo manifiestan la necesidad de asesoramiento, financiación y capacitación de jóvenes y, especialmente, mujeres para fomentar su implicación en el desarrollo de los territorios a través del emprendimiento.

**Palabras clave:** desarrollo rural, emprendimiento, mujer.

### INTRODUCCIÓN

El territorio rural español está caracterizado por el envejecimiento y la baja densidad de población, que ha emigrado hacia las ciudades en búsqueda de nuevas oportunidades. La vida en los pequeños pueblos rurales tiene sus ventajas, como una mayor tranquilidad, mayor contacto con la naturaleza o menores niveles de contaminación que en las grandes ciudades, sin embargo, la falta de oportunidades para ejercer una profesión cualificada y la falta de servicios públicos ha acrecentado las diferencias socioeconómicas, ampliando la brecha entre lo urbano y lo rural (Friedman, 1996). En este contexto, la mujer juega un papel clave en el mantenimiento y modernización de algunas instituciones, así como en la conservación de la sociedad rural y de todos sus valores. Dos de las causas que han empujado a la mujer rural a emigrar hacia las ciudades han sido la escasez de oportunidades laborales que ofrece el campo y un mercado de trabajo reducido y poco elástico, muy relacionado con las tareas del hogar, la actividad agroalimentaria y el cuidado a los mayores (García, 2004). De los Ríos y Sastre Merino (2012) señalan estrategias y mecanismos reconciliadores entre la vida personal y profesional de las mujeres como herramienta para asegurar la igualdad de género y la diversidad laboral. Autores como García (2004) consideran que el desarrollo endógeno de los territorios rurales y la conservación de los mismos, no se concibe si no se tiene en cuenta la naturaleza propia de la mujer.

El panorama actual que presenta la crisis económica y las consecuencias que conlleva, ha condicionado a muchos habitantes de las zonas rurales a estar alerta, en busca de nuevas oportunidades que ayuden a reconstruir la base económica y mejorar la calidad de vida de sus comunidades (Shane, 2000). Fomentar el autoempleo femenino y políticas agrarias y de desarrollo rural son algunas de las medidas que se quieren impulsar desde las instituciones, con el fin de animar a las mujeres a que tomen un papel protagonista (Sampedro y Camarero, 2007). En este sentido, uno de los retos se centra en el desarrollo del liderazgo de la mujer como competencia para adaptarse a los nuevos cambios que se están produciendo (Sastre-Merino, 2013). El nuevo paradigma de desarrollo rural identifica la iniciativa empresarial como medio imprescindible para estimular el desarrollo endógeno (OCDE, 2006) y aumentar, no sólo mantener, su patrimonio (Kelley et al., 2011).



## CASO DE ESTUDIO

El programa piloto “*Jóvenes Emprendedores para la Sostenibilidad de los Territorios Rurales*” (JESTeR) está compuesto por 17 municipios de la provincia de Ávila, situados en torno al municipio de Solana de Rioalmar, donde se sitúa la “finca de Garcipedro”, propiedad de la Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno. La población total del territorio alcanza los 1600 habitantes en una extensión de 379km<sup>2</sup>, resultando en una densidad de población de 4,42 habitantes por km<sup>2</sup>. Este dato es destacable, teniendo en cuenta que la media de población nacional se sitúa en torno a los 93,43 habitantes por km<sup>2</sup> (INE, 2012) y la europea en torno a 118,67 habitantes por km<sup>2</sup> (EC, 2011). El territorio representa una unidad geográfica cuya cohesión territorial se ve fortalecida por las similitudes y sinergias existentes entre los recursos productivos, culturales y ambientales de estos 17 municipios. La actividad productiva predominante es la agricultura de secano, ya que el 40,5% de la superficie se encuentra ocupada por prados y pastos (principalmente cebada y trigo) y la ganadería, centrada en la producción bovina de carne y leche (Caja Duero, 2012).

La Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno promueve este programa piloto junto con el grupo de investigación GESPLAN, de la Universidad Politécnica de Madrid. El objetivo principal del programa es la dinamización del territorio rural a través del emprendimiento desde un enfoque sostenible en el tiempo y respetuoso con el medio ambiente. Se busca un emprendimiento capaz de generar desarrollo económico y social equilibrado, con un marcado carácter innovador capaz de generar nuevos modelos de negocio, nuevos productos y nuevas formas de producir (Martín et al., 2010).

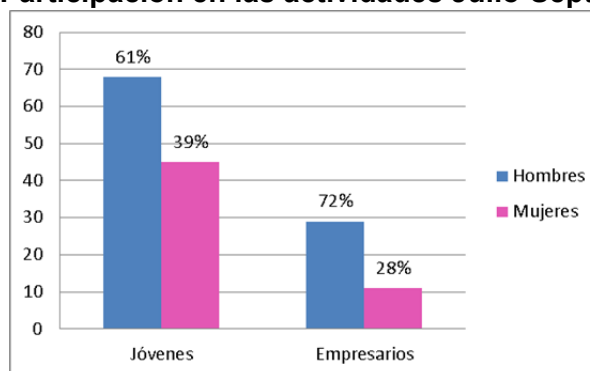
## METODOLOGÍA

La metodología de trabajo en este proyecto se apoya en el modelo *Working With People* (Cazorla et al., 2013), fruto de 25 años de experiencia *trabajando con comunidades rurales*, basado en la planificación participativa de todos los agentes involucrados en el proyecto, desde las fases de formulación e implementación hasta la gestión futura del proyecto. El modelo parte del concepto de Aprendizaje Social, donde el conocimiento se genera y se valida de manera conjunta por el planificador y por la población afectada (Friedmann, 1987). La innovación para la búsqueda de nuevas soluciones, el enfoque ascendente y la incorporación del enfoque territorial permite la articulación y el diseño de la estrategia para promover un desarrollo eficaz y dirigido a solucionar los problemas reales de la población (De los Ríos, 2011). Los tres pilares básicos en los que se apoya la metodología -ético-social, técnico-empresarial y político-contextual- suponen la inclusión de la figura del empresario de la planificación. Este empresario es el intermediario entre el poder público y privado, movilizador de recursos y capaz de negociar en ambientes turbulentos y con varios actores, con el fin de conectar las energías públicas con las demandas sociales (Urbano, 2001).

El desarrollo endógeno se consigue a través de estrategias, como la potenciación y adquisición de capacidades o la movilización de los agentes del territorio, donde los empresarios de la planificación deben contar con las competencias adecuadas de comportamiento, negociación, compromiso y liderazgo para informar adecuadamente a todos los actores involucrados y conseguir así la interacción entre los municipios y la cohesión social (NCB, 2009).

## RESULTADOS

Los datos a analizar en la presente investigación se extrajeron a partir de talleres participativos realizados en el territorio desde junio hasta diciembre de 2014. En la figura 1.1 se detallan los datos de participación recogidos en estas actividades.

**Figura 1.1. Participación en las actividades Julio-Septiembre 2014**

En la primera fase de actividades, se animó a los participantes a identificar las oportunidades, fortalezas, amenazas y debilidades, tanto de la población local como del territorio con el fin de identificar potenciales iniciativas de emprendimiento para el futuro. En la segunda fase, se trabajó con las iniciativas de proyecto de los emprendedores, para ello, se establecieron tres mesas sectoriales en función de las áreas temáticas presentadas: eje agroalimentario; eje de turismo, artesanía, cultura y patrimonio; y, eje de servicios a la comunidad y pymes no agroalimentarias.

Entre las debilidades identificadas por los participantes durante la realización de los talleres, se destacó la falta de formación en áreas relacionadas con la mercadotecnia y la necesidad de familiarizarse con el uso y dominio de las nuevas tecnologías. El 41,83% de los emprendedores demandaron formación en el área de comercialización y distribución de productos; y, el 21,42% de los emprendedores, formación en nuevas tecnologías, redes sociales e inglés. El 36,75% restante demandaron formación en áreas más generales relacionadas con el impacto ambiental, el turismo o la producción ecológica.

De los datos obtenidos, se pone de manifiesto la necesidad de establecer una estrategia de formación y capacitación dirigida a los emprendedores y orientada a favorecer y reforzar la sostenibilidad de las iniciativas de emprendimiento. Esta estrategia, que se integra dentro del Programa JESTeR, debe incluir las necesidades de formación y asesoramiento demandadas por los participantes, identificando las actividades económicas a desarrollar, su potencialidad y la potencialidad de otras nuevas que puedan emprenderse. La participación de los futuros emprendedores en el Plan de Capacitación (figura 1.2.) supone una vía de asesoramiento continua y personalizada para cada una de las propuestas, ya que el objetivo es conseguir la dinamización de los territorios, gracias a la promoción y al éxito de los proyectos innovadores.

**Figura 1.2. Plan de Capacitación del Programa JESTeR**

| CAPACITACIÓN Y FORMACIÓN EMPRESARIAL         |                              |
|--|------------------------------|
| Bloque I: Desarrollo de Competencias         |                              |
| Curso  | Nº de horas                  |
| Dirección de Proyectos                       | 16h presenciales, 24h online |
| Bloque II: TIC's y Nuevas Tecnologías        |                              |
| Curso  | Nº de horas                  |
| Formación en tecnologías de la información   | 16h presenciales, 24h online |
| Bloque III CURSOS DE ESPECIALIZACIÓN         |                              |
| Curso  | Nº de horas                  |
| Introducción a la apicultura                 | 15h presenciales             |
| Introducción a la ganadería ecológica        | 20h presenciales             |
| Comercialización y distribución de productos | 16h presenciales, 24h online |
| Contabilidad básica                          | 16h presenciales, 24h online |
| Gestión de alojamientos rurales              | 16h presenciales, 24h online |

El objetivo de este Plan es conseguir mejoras en la formulación y planificación del proyecto emprendedor para conseguir el éxito del Programa a largo plazo.



Otro de los resultados obtenidos durante la realización de estas actividades participativas fue la necesidad de definir las condiciones de financiación y/o ayudas económicas. Siguiendo la metodología Working With People, la definición de estas condiciones fue debatida en conjunto con la población durante la realización de los talleres. Destaca, entre otras, la necesidad de establecer facilidades de financiación que sean realistas, pero al mismo tiempo, desahogadas, y que permitan a los emprendedores y emprendedoras ser capaces de hacer frente a la inversión, al cumplimiento de plazos y a la devolución del préstamo para la puesta en marcha de los proyectos. Valores como la transparencia y la confianza mutua entre las partes son fundamentales en el éxito del Programa.

### CONCLUSIONES

El papel de la mujer rural cobra cada vez más importancia en el desarrollo de los territorios rurales españoles y su protagonismo debe consolidarse en la sociedad rural moderna. La desagrarización del campo y la desaparición de muchos oficios tradicionales han contribuido, de manera muy notable, a la capacidad de las mujeres rurales de adaptarse a los cambios que están aconteciendo en la sociedad actual. La participación de los jóvenes, y en especial de las mujeres, en las actividades realizadas durante las primeras fases del programa JESTeR, afianza y evidencia el deseo del cambio y la superación personal, la innovación y la búsqueda de alternativas. En consonancia con la misión y objetivos de la Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno, basados en el compromiso claro con la sociedad y con la formación de la juventud, la dinamización del territorio y el mantenimiento y conservación del patrimonio histórico y cultural, se detecta la necesidad de priorizar aquellas iniciativas de proyectos impulsadas por mujeres y jóvenes que sean generadores de empleos en el territorio, sostenibles en el tiempo y respetuosos con el medio ambiente.

### BIBLIOGRAFÍA

- Cazorla, A., De los Ríos, I., Salvo, M., (2013) Working With People (WWP) in Rural Development Projects: a Proposal from Social Learning. Cuadernos de Desarrollo Rural, 10 (70), 131-157.
- Datos Económicos y Sociales de las Unidades Territoriales de España, 2012. Caja España-Duero, 2012.
- Friedmann, J. 1987. Planning in the public domain: from knowledge to action. Princeton University Press.
- Friedmann, J. 1996. Modular cities: beyond the rural-urban divide. Environment and Urbanization, 8 (1), 129-131.
- García Sanz, B., 2004. La mujer rural en los procesos de desarrollo de los pueblos. Páginas 107-120. Revista del Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, número 55 años 2004. ISSN: 1137-5868
- ICB-NCB IPMA competence baseline, version 3.0. International Project Management Association, Nijkerk 2006.
- Instituto Nacional de Estadística (INE). Población, superficie y densidad por municipios por CCAA y provincias. Instituto Nacional de Estadística. Disponible en <http://www.ine.es/axi/tabla.do>
- Kelley, D., Bosma, N., & Amorós, J.E. 2011. Global Entrepreneurship Monitor: 2010 Global Report. Babson College and Universidad del Desarrollo.
- Martín Cruz, N., Hernangómez Barahona, J., Rodríguez Escudero, A. I., & Saboia Leitaó, F. 2010. La formación de los emprendedores y sus consecuencias sobre la innovación y el éxito empresarial. Dirección y Organización, (41), 86-95.
- OCED, 2006. The new rural paradigm: policy and governance. Working paper on territorial policy in rural areas. Paris: OECD.
- Ozgen, E., Baron, R.A., Social sources of information in opportunity recognition: Effects of mentors, industry networks, and professional forums. Journal of Business Venturing. 2007; 22(2):174-92.
- Ríos-Carmenado, I. D. L., Díaz-Puente, J. M., & Cadena-Iñiguez, J. 2011. La iniciativa LEADER como modelo de desarrollo rural: Aplicación a algunos territorios de México. Agrociencia, 45(5), 609-624.
- Ríos Carmenado, I. D. L., & Sastre Merino, S. 2012. Leadership and project management competences in executive women: different styles from the agents' perceptions.
- Sampedro Gallego, R., & Camarero Rioja, L. 2007. Mujeres empresarias en la España rural. El sujeto pendiente del desarrollo. Revista Internacional de Sociología, 65(48), 121-146.
- Sastre-Merino, S. 2013. Desarrollo de liderazgo en proyectos de desarrollo rural: caso de estudio en una organización de mujeres aymaras en puno (Perú). 17th International Congress on Project Management Engineering. Logroño, 17 -19th July 2013.
- Shane, S., Prior knowledge and discovery of entrepreneurial opportunities. Organization Science, 11 2000, pp. 448-469
- Urbano, J., 2001. Consideraciones metodológicas para la recuperación de tierras áridas degradadas. Observatorio medioambiental, 2001, número 4, 49-89.





## CARACTERIZACIÓN DE PIGMENTOS POLIMÉRICOS Y PIRANOANTOCIANOS EN MICROFERMENTACIONES DE MOSTOS DE UVA TINTA FERMENTADOS CON NO-SACCHAROMYCES

Escott, Carlos<sup>1</sup>

Tutores: Morata, Antonio<sup>2</sup>; Loira, Iris<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Master Universitario SALINA. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

<sup>2</sup>Departamento de Tecnología de Alimentos. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.  
c.escott@alumnos.upm.es

### RESUMEN

El color del vino es, junto con el aroma y la estructura, uno de los principales parámetros de calidad en vinos tintos. Los piranoantocianos son pigmentos del vino tinto que resultan de la condensación de antocianos que son pigmentos naturales del hollejo de la uva, como el malvidin-6-glucósido, con metabolitos secundarios de la fermentación alcohólica, como el ácido pirúvico y el acetaldehído, o con vinilfenoles formados por levaduras con actividad hidroxycinamato descarboxilasa (HCDC). Los piranoantocianos son pigmentos del vino tinto más estables a la degradación debida a variaciones en el pH y a la oxidación por SO<sub>2</sub>. En este estudio se evalúa la formación de piranoantocianos y pigmentos poliméricos en presencia de catequina y procianidina B2 durante la fermentación alcohólica de levaduras de géneros no-*Saccharomyces*. La caracterización de estos pigmentos poliméricos, vinilfenólicos y piranoantocianicos se lleva a cabo con el uso de técnicas analíticas como la cromatografía líquida (HPLC-DAD-ESI/MS). El vino es caracterizado mediante el uso de espectroscopía IR y cromatografía de gases (GC).

**Palabras clave:** Piranoantocianos, pigmentos-poliméricos, vino

### INTRODUCCION

Existe una gran variedad de levaduras capaces de iniciar la fermentación de azúcares presentes en las uvas tintas para la producción del vino. Muchas de estas levaduras son nativas o autóctonas del sitio donde se cosecha la uva y se diferencian las unas de las otras no solo por sus características fisiológicas sino por su metabolismo capaz de producir una gran variedad de compuestos responsables del aroma, el color y el gusto de los distintos vinos tintos.

Entre los metabolitos de interés se encuentran las moléculas volátiles que son responsables en gran medida del aroma y el flavor de los vinos tintos. Levaduras como la *Candida stellata* aumentan la concentración de compuestos como el glicerol (Loira *et al*, 2014) o reducen la cantidad de ácido acético producido para contribuir a la complejidad del aroma aportando compuestos frutales como lo hace la levadura *Starmerella bacillaris* (Englezos *et al*, 2015) y las levaduras del género *Schizosaccharomyces* spp. que reducen la concentración de ácido málico en el vino (S. Benito *et al*, 2012).

Las condiciones de fermentación también son responsables de una producción más elevada de ciertos metabolitos como los ésteres de acetato. Tal es el caso del incremento de la producción de acetato de isoamilo y del 2-feniletil acetato por las levaduras *H. gilliermondii* y *P. anomala* en condiciones de aireación elevada (Rojas *et al*, 2001).

Por otro lado se encuentran las moléculas responsables del color del vino tinto. Las piranoantocianinas son pigmentos estables formados durante el metabolismo de las levaduras producidos por reacciones de condensación de malvidin-3-O-glucósido (M3G) con ácido pirúvico y acetaldehído (Suárez-Lepe y Morata 2012). La formación de piranoantocianinas puede incrementarse por actividad metabólica de levaduras del



género no-*Saccharomyces* como son la *Pichia gilliermondii* o la *Schizosaccharomyces pombe* (Loira *et al*, 2014). Los pigmentos poliméricos se forman por la condensación de moléculas de M3G con una o más moléculas de catequina como el caso de la procianidina B2 que es un dímero de la catequina.

En este trabajo de investigación se caracterizaron tanto los compuestos volátiles (GC-FID) como los antocianos, piranoantocianos, pigmentos poliméricos y vinilfenoles (HPLC-DAD-ESI/MS) de vinos producidos por la fermentación pura y secuencial de levaduras del género no-*Saccharomyces* para evaluar la factibilidad de su producción en función de la cepa de levadura empleada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó un mosto fresco de *V. vinifera* L. cv. tempranillo con una concentración de azúcares disueltos de 242g/l, un pH de 3,5, una densidad de 1102, °Brix de 26,6% y un potencial alcohólico de 14,3 % v/v. El mosto se esterilizó en autoclave a 70 °C durante 1 minuto y se dividió en 3 partes iguales: 1) mosto control, 2) mosto con catequina y 3) mosto con procianidina B2.

Se evaluaron las cepas de levadura *Schizosaccharomyces pombe* (938) y *Saccharomycodes ludwigii* (979) en fermentación pura, y la cepa *Torulaspora delbrueckii* (1880) en fermentación secuencial con la *Saccharomyces cerevisiae* (7VA) (añadida a los 7 días del inicio de la fermentación). La cepa 7VA se empleó como control en fermentación pura. Las fermentaciones se llevaron a cabo en microfermentadores de 10ml y a una temperatura constante de 25° C.

**Caracterización de vino con espectroscopía infrarroja (IR).** Algunas propiedades de los vinos producidos en los microfermentadores como el grado alcohólico, la concentración de ácido málico, la acidez volátil, el pH y las concentraciones de glucosa y fructosa han sido determinadas mediante el uso del IR con el equipo OenoFoss<sup>TM</sup>.

**Análisis de compuestos volátiles.** Los compuestos volátiles de origen fermentativo fueron medidos mediante el uso de cromatografía de gases (GC-FID) de acuerdo con Loira *et al* (2014) y cuantificados mediante estándar interno de 4-metil-2-propanol.

**Determinación de antocianos.** Los pigmentos del vino, tanto antocianos como piranoantocianos y otros pigmentos poliméricos se caracterizaron mediante el uso de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (HPLC-DAD-ESI/MS) con una columna C18 de fase reversa según Loira *et al* (2014). La longitud de onda empleada para la cuantificación de los compuestos por comparación con un estándar externo es de 525nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El vino, producto de la fermentación de los mostos durante 17 días, se caracterizó con la técnica de IR con el equipo OenoFoss<sup>TM</sup> y los valores medios se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1. Parámetros de caracterización del vino tinto obtenido de las fermentaciones puras y secuenciales con no-saccharomyces**

| Cepa                       | EtOH<br>Vol % | pH  | Málico<br>g/l | Gluc/Fruc<br>g/l | Glucosa<br>g/l | Acidez Total<br>TH2 | Acidez Volátil<br>g/l | Ácido láctico<br>g/l | Fructosa<br>g/l |
|----------------------------|---------------|-----|---------------|------------------|----------------|---------------------|-----------------------|----------------------|-----------------|
| 938 <i>S. pombe</i>        | 14,1          | 4,0 | 1,0           | 1,7              | 0,7            | 3,5                 | 0,4                   | 0,7                  | 1,1             |
| 979 <i>S. ludwigii</i>     | 13,9          | 3,8 | 2,9           | 2,9              | 0,4            | 5,9                 | 0,5                   | 0,4                  | 2,6             |
| 1880 <i>T. delbrueckii</i> | 13,9          | 3,7 | 2,3           | 1,2              | 1,2            | 5,5                 | 0,2                   | 0,5                  | 1,4             |
| 7VA <i>S. cerevisiae</i>   | 14,0          | 3,8 | 2,6           | 1,0              | 0,6            | 5,4                 | 0,2                   | 0,6                  | 0,7             |

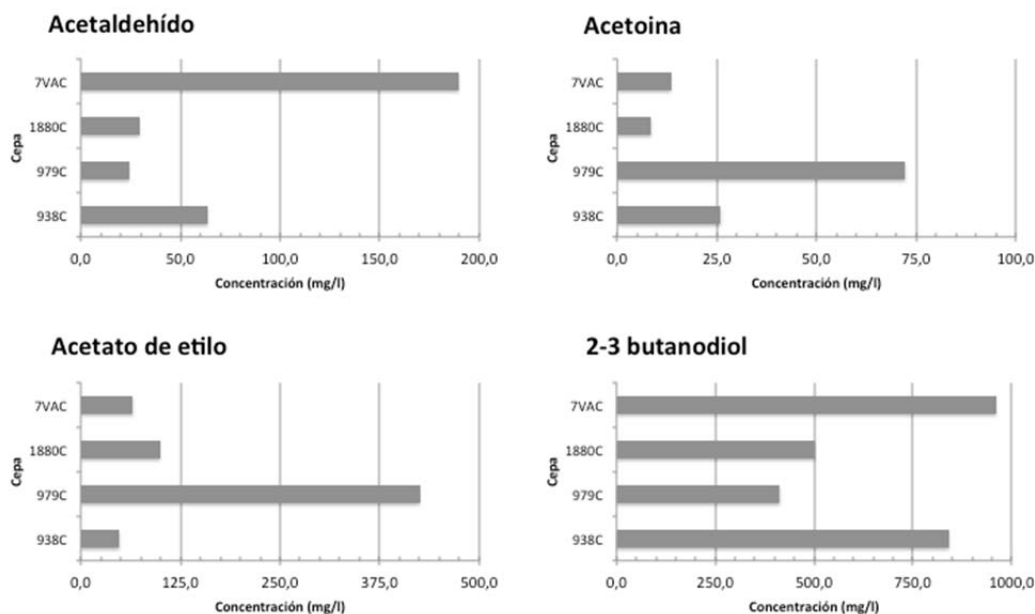


TH2 – Como equivalentes de ácido tartárico en g/L; Gluc/Fruc – Glucosa + Fructosa en g/L

En dicha tabla se observa que el grado alcohólico alcanzado en todos los casos es cercano a 14 % v/v y que la cepa 938 de levadura *Schizosaccharomyces pombe* es la que presenta mayor variación en el perfil composicional pues ha consumido la mayor cantidad de ácido málico, su acidez total expresada en ácido tartárico es menor que el resto de levaduras, tiene más elevada concentración de ácido láctico y un valor de pH mayor que el resto de las cepas evaluadas. Por otra parte, la cepa 979 de levadura *Saccharomycodes ludwigii* tiene una acidez total expresada en ácido tartárico mayor que el resto, menor concentración de ácido láctico y mayor cantidad de ácido málico residual. Al final de la fermentación todas las levaduras produjeron vinos secos, es decir que el contenido de azúcares residuales no supera los 4g/l.

El perfil de compuestos volátiles está determinado por la levadura con la que se inició la fermentación de los mostos. Algunos compuestos como el metanol, el hexanol o el acetato de 2-feniletilo tienen una concentración similar en todas las fermentaciones evaluadas independientemente de la cepa de levadura empleada. No ocurre lo mismo con otros metabolitos como el acetaldehído, la acetoína, el acetato de etilo o el 2-3 butanodiol cuya concentración en el vino producido varía según la cepa de levadura utilizada (Figura 1).

**Figura 1. Concentración de algunos compuestos volátiles en vinos tintos en función de la cepa de levadura empleada para la fermentación.**



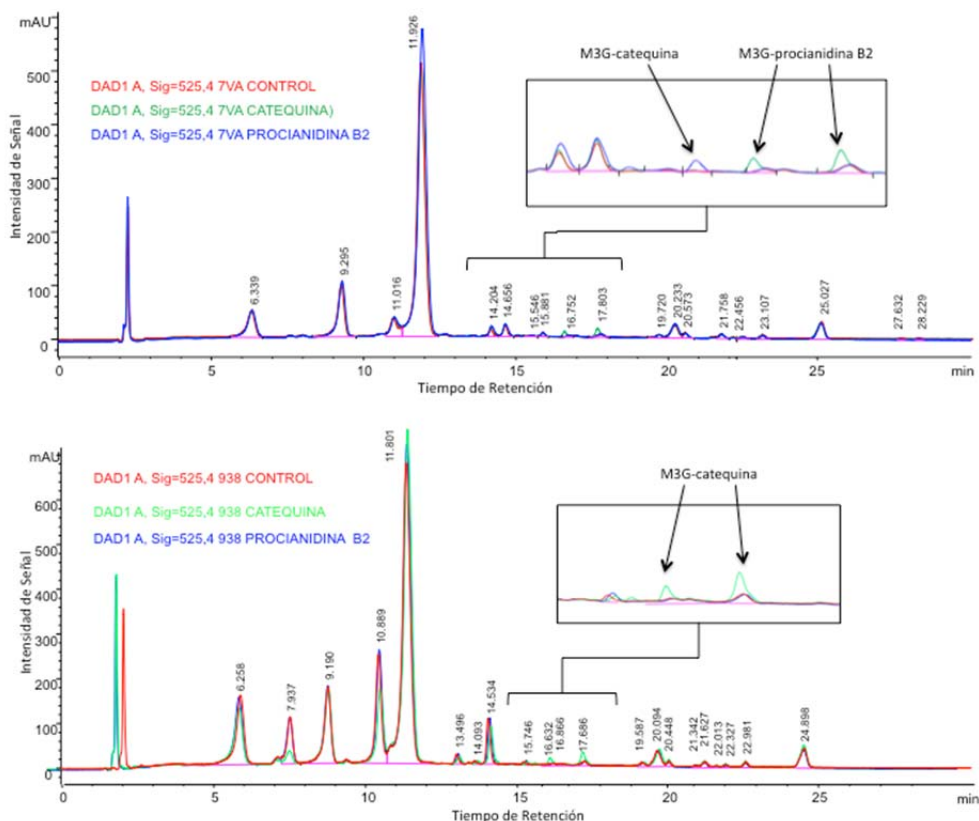
El acetato de etilo por ejemplo produce un olor similar al solvente del pegamento y la acetoína un olor similar al de la mantequilla o las almendras; la combinación de compuestos volátiles, incluidos los que se muestran en la Figura 1, confieren un perfil organoléptico particular a cada vino tinto.

Los pigmentos del vino tinto, tanto la concentración de los antocianos y piranoantocianos, varían en función de la cepa de levadura utilizada para la fermentación de los mostos. La formación de pigmentos poliméricos, dímeros y trímeros de la catequina con el malvidin-3-O-glucósido (M3G), se observa al añadir catequina y procianidina B2 a los mostos previa la fermentación con levaduras. En la Figura 2 se observan los picos correspondientes a los dímeros de catequina con M3G formados tanto por la 7VA como



por la 938 mientras que el trímero formado por la unión de la procianidina B2 con el M3G se forma únicamente por la cepa 7VA.

**Figura 2. Cromatograma de HPLC que muestra formación de pigmentos poliméricos en vinos al usar levadura *Saccharomyces cerevisiae* 7VA (arriba) y *Schizosaccharomyces pombe* 938 (abajo)**



La concentración tanto de antocianos como de piranoantocianos del tipo Vitisinas es mayor cuando se fermenta con *Schizosaccharomyces pombe*.

## CONCLUSIONES

La complejidad del perfil sensorial de los vinos tintos, incluido el color, es producto de la variedad de metabolitos producidos por las distintas levaduras durante la fermentación. El uso controlado de levaduras de distinto género durante la fermentación del mosto de uvas tintas puede contribuir a incrementar la calidad del vino al potenciar aromas (al incidir en la palatabilidad) y mejorar la estabilidad de pigmentos o bien propiciar la formación de pigmentos poliméricos (cepas 7VA y 938) y compuestos vinilfenólicos (cepa 7VA) resistentes a la oxidación por varios factores.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Departamento de Tecnología de Alimentos con especial mención a Antonio Morata y a Iris Loira por su orientación profesional durante la ejecución del proyecto.

## BIBLIOGRAFÍA

- Loira, I., Vejarano, R., Bañuelos, M.A., Morata, A., Tesfaye, W., Uthurry, C., Villa, A., Cintora, I., Suárez-Lepe, J.A. 2014. LWT – Food Sci Tech, 59: 915 – 922
- Englezos, V., Rantsiou, K., Torchio, F., Rolle, L., Gerbi, V., Coccolin, L. 2015. Food Res Int, 69: 244 – 255
- Benito, S., Palomero, F., Morata, A., Calderón, F., Suárez-Lepe, J.A. 2012. Int J Food Sci Tech, 47: 283 – 289
- Rojas, V., Gil, J.V., Piñaga, F., Manzanares, P. 2001. Int J Food Microbiol, 70: 283 – 289
- Suárez-Lepe, J.A., Morata, A. 2012. Trends Food Sci Tech, 23: 39 – 50



## ¿ES EFICIENTE LA PRODUCCIÓN DE LECHE VIRTUAL?

Calvo Molinero, Georgina; Hernández Martín, Antonio

Tutor: Villamide Díaz, María Jesús

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*  
georgina.calvo.molinero@alumnos.upm.es antonio.hernandez.martin@alumnos.upm.es

### RESUMEN

La práctica consiste en el manejo de tres granjas virtuales en las que variamos la dieta con la que alimentamos a las vacas.

En el primer caso separamos las vacas en dos grupos a los que se les suministra dos dietas diferentes según su nivel de producción de leche. La segunda alternativa consiste en una única dieta basada en forrajes (75 % de la dieta) y bagazo de cerveza, un subproducto de la industria cervecera. Con ello pretendemos disminuir el precio de la alimentación además de utilizar un residuo industrial. Para poder realizar las comparaciones partimos de los resultados obtenidos con una dieta control, que es la dieta predeterminada al iniciar el uso de la granja.

Tras la recogida de datos analizamos el consumo de alimentos, la producción y calidad de leche, y se calculan las eficiencias proteicas y los costes de alimentación de cada alternativa. La granja en la que se obtiene una mayor productividad y menor coste económico es en la que se suministra una dieta forrajera, pero la más eficiente desde el punto de vista medioambiental (28,5% de eficiencia proteica) es la que utiliza dos dietas.

**Palabras clave:** granja virtual, producción leche, dieta, eficiencia

### INTRODUCCION

En este trabajo pretendemos analizar cómo influyen distintos sistemas de alimentación en la productividad de vacas lecheras a través de las simulaciones realizadas con un programa que permite el manejo de una granja virtual. Gracias a este programa de acceso vía internet (<http://granjadevacas.es/>) desarrollado por el Servicio de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma de Barcelona, que simula las actividades diarias de una explotación de bovino lechero podremos llevar a cabo múltiples análisis tras una serie de actuaciones determinadas.

Debemos tener en cuenta que se trata de un caso virtual, por lo que hay muchas acciones que podrían tener graves efectos a largo plazo (como los fallos reproductivos), pero que no quedan reflejados en simulaciones de corta duración.

Para familiarizarnos con el programa manejamos en primer lugar granja de prueba para posteriormente realizar las simulaciones en las granjas definitivas utilizadas en la comunicación. En la misma página de acceso encontramos instrucciones en formato texto y vídeos donde nos explican claramente que acciones diarias hay que realizar, si bien la organización de esas acciones queda a criterio del usuario. También hay ciertas acciones técnico-económicas que son decisión propia del usuario como puede ser la venta o la compra de vacas, terneras etc. El programa nos facilita la opción de exportar los datos en tablas para los cálculos posteriores.

### MANEJO DE LA GRANJA

La granja virtual se compone de una serie de pestañas diferentes. En la primera pestaña aparecen distintos indicadores técnicos de la explotación (días simulados, producción de leche, errores cometidos, etc), la segunda muestra los indicadores económicos y las siguientes corresponden a los datos de los rebaños de vacas y novillas-terneras, donde



realizaremos las tareas diarias de supervisión y manejo. Para simplificar el manejo y minimizar errores, nosotros seguimos el orden siguiente:

1. Control de celo e inseminación: Inseminamos las vacas, fijándonos en el día de ciclo estral en el que están. Presentan celos entre los días 18 y 24 y las vacas deben ser inseminadas durante la monta.
2. Diagnóstico de gestación: Se realiza a partir del día 35 de la última inseminación.
3. Finalización de la lactación: Basándonos en los días de gestación, secamos las vacas que se encuentran entre los días 220 y 226.
4. Control de cubriciones en novillas: Inseminamos las terneras de recria siguiendo las mismas indicaciones que en las vacas. Para inseminar a una ternera es necesario que esta mida más de 127 cm y pese más de 350 Kg, la inseminación se hace igual que en las vacas, durante la monta.
5. Control de partos-nacimientos: Cuando se produce el nacimiento de un ternero debemos, en su primer día, desinfectar el cordón umbilical, colocar el crotal y administrar calostro (2 litros, 2 veces al día). El segundo día se repite la misma alimentación y por último en el tercer día se cambian de neonatos a lactantes y se programa el suministro de leche en polvo (2 litros, 2 veces al día) de forma automática.
6. Destete y venta de terneros: Una vez que los terneros alcanzan los nueve días de vida se deben vender al no tener uso en la explotación lechera y las terneras se destetan cuando consumen 1 Kg diario de alimento (aproximadamente a los 60 días).
7. Revisión estado sanitario de los animales: Cuando una vaca se pone enferma debe ser tratada con el tratamiento correcto, y su leche debe ser retirada hasta que pasen los efectos del terapéutico utilizado.

Tanto los cambios en la dieta como la venta o compra de animales es una decisión técnica que tiene repercusiones productivas, económicas y medioambientales importantes. La cantidad de los distintos alimentos que componen la dieta se modifica en una pestaña dentro de la hoja del rebaño de vacas en producción. Podemos definir la dieta que administraremos a los animales a partir de seis ingredientes principales (Tabla 1). En la misma pestaña se nos muestra el contenido nutricional de los ingredientes y de la ración creada.

El objetivo de la práctica es comparar la eficiencia proteica de la producción de leche de vacuno al someter a las vacas en lactación a diferentes sistemas de alimentación (dieta control, forrajera, dos dietas según nivel de producción examinando los posibles efectos derivados de cada uno de estos modelos en especial su sostenibilidad ambiental).

Se recogerán los datos únicamente de las vacas en lactación ya que queremos centrarnos únicamente en la eficiencia de producción de leche y no en la eficiencia global de la explotación.

A partir de los datos de producción de leche, ingesta de alimento y sus contenidos en proteína obtenemos los valores medios por vaca y día en cada explotación. Calculamos la eficiencia proteica como la relación entre los g de proteína producidos en la leche/g de



proteína ingeridos. Los datos de la granja con dos raciones se han obtenido como media ponderada, del número de vacas con cada dieta.

Modelos:

- Granja Control consta de las características que el programa facilita al iniciar el uso de la granja. Consiste en una única dieta con unos niveles de nutrientes moderados (Energía Neta leche (ENL): 1.64 Mcal/kg MS y 15.5% de proteína bruta (PB)) y una ración de 22 kg MS por vaca y día. Esta granja nos servirá para comparar los cambios observados en las otras alternativas.
- Granja Forrajes, una única dieta basada en forrajes, silo de maíz y heno de alfalfa, y subproductos valorizados de la industria alimentaria (en nuestro caso Bagazo de cerveza) con una ración de 30 kg por vaca y día. Su contenido en proteína es bastante elevado (16.9%), pero su aporte energético es menor al de la dieta control (1.4 Mcal ENL/kg MS). Se pretende conseguir una reducción de la competencia directa por el alimento de la explotación con los seres humanos además de disminuir los costes en alimentación.
- Granja 2 Raciones, se organiza el rebaño en lactación en dos lotes a los que se les suministra dos raciones, una de ellas (para las vacas con producción mayor de 40 l de leche por día) bastante rica en proteína (16.9%), suministrando un total de 30 Kg por vaca y día, la intención es maximizar su producción, mientras que la otra (para las de menor producción) es igual que la dieta de la granja control, con un suministro de 22 Kg por vaca y por día. El objetivo es maximizar la eficiencia de producción y hacerla más competitiva.

**Tabla 1. Características de las dietas: Composición en ingredientes, contenido en Energía Neta leche (ENL) y proteína bruta (PB) y coste.**

| Ingredientes, % MS | Control | Forrajes | 2 Raciones |         |
|--------------------|---------|----------|------------|---------|
|                    |         |          | Dieta A    | Dieta B |
| Silo maíz          | 45,5    | 40,0     | 23,3       | 45,5    |
| Heno alfalfa       | 9,1     | 34,0     | 23,3       | 9,1     |
| Harina maíz        | 18,2    | -        | 23,3       | 18,2    |
| Cebada             | 9,1     | -        | 13,3       | 9,1     |
| Harina de soja     | 9,1     | -        | 10,0       | 9,1     |
| Bagazo de cerveza  | 9,1     | 26,0     | 6,7        | 9,1     |
| ENL (Mcal/kg MS)   | 1,64    | 1,40     | 1,64       | 1,64    |
| PB (% MS)          | 15,50   | 16,90    | 16,90      | 15,50   |
| Coste €/100 kg     | 19,00   | 14,30    | 19,77      | 19,00   |

El %PB es el mismo en la dieta de forrajes que en la dieta A de la granja de dos raciones, la diferencia se encuentra en la energía neta. En cambio, la dieta A se diferencia de la dieta control en el %PB mientras que tienen el mismo nivel de energía neta.

Los resultados obtenidos después del suministro continuado de las dietas se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2. Efecto del sistema de alimentación en la producción y calidad de leche, eficiencia proteica y coste de la alimentación de vacas en lactación.**

|                                      | Control | Forrajes | 2 Raciones |         |             |
|--------------------------------------|---------|----------|------------|---------|-------------|
|                                      |         |          | Dieta A    | Dieta B | Media Expl. |
| Producción de leche, l/día           | 29,92   | 37,74    | 42,74      | 30,94   | 34,88       |
| Proteína en leche, %                 | 2,98    | 3,11     | 2,91       | 3,17    | 3,08        |
| Grasa en leche, %                    | 3,68    | 3,72     | 3,49       | 3,74    | 3,66        |
| Ingesta, kg/día                      | 20,67   | 25,96    | 27,49      | 21,51   | 23,5        |
| Alimento ofrecido, kg/día            | 22,0    | 30,0     | 30,0       | 22,0    | 24,7        |
| Coste alimento, €/vaca               | 4,18    | 4,29     | 5,93       | 4,18    | 4,76        |
| % Alimento no ingerido               | 6,07    | 13,48    | 8,37       | 2,24    | 4,28        |
| Eficiencia (kg leche/kg MS ingerida) | 1,448   | 1,454    | 1,555      | 1,439   | 1,477       |
| Eficiencia proteica                  | 0,278   | 0,267    | 0,267      | 0,294   | 0,285       |
| Coste alimento €/ 100 kg de leche    | 13,13   | 9,84     | 12,71      | 13,21   | 13,04       |

Granja 2 Raciones con dos dietas: Dieta A (Vacas con producción > 40 l/día) 30 kg MS/día y alto contenido en proteína, Dieta B 22 kg MS/ día y bajo contenido en proteína. Granja Control 22 kg MS/día, dieta equilibrada. Granja Forrajes 30 kg MS/día a base de forrajes y bagazo.

La granja cuya alimentación se basa en forrajes tiene una producción (37.7l/d vs 34.9 y 29.9 l/d) y calidad de leche mayor que las otras dos alternativas, con un alto contenido en proteínas y grasa, sin embargo, su eficiencia proteica es inferior (26.7% vs 27.8 y 28.5%). Esto se debe al desequilibrio que presenta la dieta en cuanto a ENL en relación a la PB y a la poca variedad en alimentos de la dieta de forrajes, lo que resultaría, en una situación real, menos apetecible y fácil de consumir. Por otra parte, es la que presenta el menor coste en alimentación por kg de leche (9.84 €/100 l leche). Desde un punto de vista medioambiental debemos tener en cuenta el aumento de emisiones de metano derivados de la alimentación con altos niveles de forraje, diariamente cada vaca emitirá en torno a 0.51 kg de N. Creemos que el programa de la granja virtual no incluye en su cálculo de la capacidad de ingestión el volumen ni las características físicas de la dieta, de manera que ha sobreestimado el consumo de la ración de forrajes, de ahí sus buenos resultados productivos.

En la granja 2 Raciones tanto la producción de leche como su contenido en proteínas es menor que en la de Forrajes, pero superior al Control. La eficiencia expresada en kg (1.48) y la eficacia proteica (0.285) son las más elevadas, sin embargo el coste de la alimentación es similar al de la granja control. La emisión de N al medio (0.43 kg N por vaca y día) disminuye un 15% respecto a la dieta forrajera, esta diferencia es menor si la expresamos por 100 kg de leche producida (1.35 frente a 1.23 kg de N emitido/100 kg de leche producida).

Por último, observamos que las dietas con raciones de 30 Kg MS por animal y día tienen un porcentaje de alimento desperdiciado o no ingerido mucho mayor al de las raciones de 22 kg, por lo que se debería ajustar el suministro al consumo.

## CONCLUSIONES

Tras un análisis de los resultados consideramos que el sistema de alimentación utilizado en la granja 2 Raciones es la que mejor resultados ha obtenido, desde el punto de vista medioambiental, pues se han conseguido las mejores eficiencias, una buena producción de leche y unos costes aceptables.

## BIBLIOGRAFÍA

- Servei de Nutrició i Benestar Animal. Granja docente. Sergio Calsamiglia. (14-03-2015)
- De Blas, C., Gonzalez, G. y Argentería, A. 1987. Nutrición y alimentación del ganado. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- S. Calsamiglia, A. Bach, C. de Blas, C. Fernández y P. García-Rebollar .Noviembre 2009. Necesidades nutricionales para rumiantes de leche. Normas FEDNA.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. <http://www.magrama.es/es/ganaderia/temas/default.aspx>.





## MECANIZACIÓN EN LA COSECHA DE FRAMBUESAS DE PEQUEÑOS AGRICULTORES

Ode Leyton, Juan Pablo

Tutores: Valero Ubierna, Constantino; Fredes Monsalve, Claudio

*Departamento de Ingeniería Agroforestal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*

*Departamento de Cs. Agrarias. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Católica del Maule*

j.pablo.ode@gmail.com

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo es establecer una aproximación a la mecanización en la cosecha de frambuesas (*Rubus idaeus*) de pequeños agricultores de Chile. Para ello se realizó una revisión bibliográfica de documentos, de los cuales se pudo establecer las dificultades, necesidades y conocimientos necesarios para llevar a cabo este tipo de manejo. La falta de variedades adecuadas y el establecimiento incompatible del cultivo a las exigencias de la mecanización son una de las principales limitantes al momento de implementar esta tecnología. La maquinaria disponible se limita a vibradores y sacudidores por aire forzado, las cuales se pueden regular a las exigencias que se demandan. La madurez poco uniforme de este cultivo hace necesario determinar la fuerza de retención de la fruta, que es la principal variable dentro de la cosecha, y determina el régimen de vibración de las cosechadoras. Una cosecha eficiente es la que obtiene un gran número de frutos maduros con un despreciable porcentaje de frutos verdes recolectados. Para lograr esto, se necesita el continuo mejoramiento dentro de las variedades y las tecnologías de recolección

**Palabras clave:** *Frambuesa, cosecha, mecanización*

### INTRODUCCIÓN

La producción de frambuesa es el rubro más explotado dentro de los berries en Chile por su valor económico y la importancia para el desarrollo de las zonas rurales. Debido a dificultades técnicas y de manejo, la producción del país queda en manos de pequeñas explotaciones que junto a un bajo incentivo gubernamental y privado, dificultan la implementación de tecnologías para realizar labores tan difíciles como es la cosecha y alcanzar niveles superiores de estándares y productividad. El objetivo de este trabajo es establecer las dificultades, necesidades y conocimientos necesarios para una aproximación a la mecanización en la cosecha de frambuesas (*Rubus idaeus*) de pequeños agricultores de Chile.

### SITUACIÓN ACTUAL EN CHILE

Hasta el momento, en Chile no se ha implementado el uso de máquinas cosechadoras para el consumo fresco porque provoca daños en la fruta, haciéndola viable solamente en cultivos con destino a industria, de modo que solo un 3%-5% de la frambuesa se cosecha mecánicamente (Chile Potencia Alimentaria, 2006). Uno de los factores que han impedido una mayor expansión es el predominio de la variedad Heritage, en casi el 80% de los huertos chilenos (Odepa, 2014), la cual tiene problemas de desprendimiento de fruto, y hace muy difícil su cosecha mecanizada. Ocurre lo contrario en EEUU, donde predomina la variedad Meeker, que no presenta este inconveniente. La disponibilidad y valor de la mano de obra hace necesario mirar más de cerca la mecanización en el momento de la cosecha, por lo tanto, es uno de los principales objetivos dentro de la mecanización de berries. Como ejemplo está el caso de la empresa agrícola de Rio Claro S.A. de la comuna de Linares: en un huerto de 14,5 ha se requieren 102 personas para la cosecha manual, o sólo 5 con cosecha mecanizada. Este huerto obtiene un margen por hectárea,



para un rendimiento de 12 ton/ha, de 1.648 US\$ en el caso de efectuar una cosecha mecanizada y de 350 US\$ en el caso de cosecha manual (Chile Potencia Alimentaria, 2006).

El cultivo de la frambuesa en Chile no tiene muchas similitudes a la producción estadounidense. Chile tiene pequeñas operaciones agrícolas, una mayor utilización de fertilizantes, productos agroquímicos, fungicidas, etc. además de vidas más largas en los frambuesos y falta de un registro detallado de los pequeños agricultores y sus operaciones, en contraste a EEUU que ocurre lo contrario. Los agricultores chilenos dependen más de la mano de obra que de la mecanización para completar las operaciones del cultivo y la presencia de máquinas básicas, como tractores, es poco común. Solo en explotaciones medianamente grandes, superiores a las 15 ha es posible encontrar tractores y algún que otro apero para el mantenimiento del huerto (cortadores de maleza, pulverizadores, etc.). Pero en ningún caso existe la presencia de máquinas cosechadoras. Esto se debe a costes de mano de obra bajos (comparado con otros países competidores, como EEUU). Según la Organización Internacional de la Frambuesa, el 98% de la frambuesa se cosecha a mano, y el 2% restante, de forma mecanizada. Este es un reflejo de la presencia dominante de pequeñas granjas en Chile. Es más asequible pagar mano de obra, que invertir en una cosechadora mecánica. Otra barrera hacia la mecanización es el alto costo del combustible (Rabcewicz y Danek, 2010).

Una observación importante es que la decreciente disponibilidad de mano de obra no se ve reflejada en el precio de ésta. Si bien gradualmente va aumentando su precio, aún no logra justificar la inversión de la adquisición de una cosechadora, el costo de mantenimiento y la ociosidad del equipo durante gran parte del año.

## **ASPECTOS GENERALES DE COSECHA MECANIZADA DE FRAMBUESAS**

La cosecha mecanizada tiene como ventaja la rapidez y un menor costo por tonelada recolectada, pero al ser destructiva, sólo puede ser utilizada en cultivos de maduración concentrada. Como desventajas adicionales se pueden mencionar que toda la operación debe estar diseñada para la cosecha mecánica, empezando por los sistemas de conducción de postes y alambres, distancia entre hileras, nivelación del terreno, pulverizaciones, labores culturales y muy especialmente, variedades que se adapten a una manipulación más ruda (López, 2003).

Dentro del rubro, sobre el 60% de los costos directos de la producción son generados por la cosecha manual. Sin embargo, la cosecha mecanizada de una producción de frambuesas con destino a procesamiento puede llegar a ser rentable. La recolección de frambuesa usando una cosechadora se ve obstaculizada por la necesidad de cosechar varias veces a lo largo de la temporada, por la maduración gradual no uniforme de los frutos. Esto provoca vulnerabilidad a daños mecánicos y cambios en la fuerza de desprendimiento del fruto. Repetidas cosechas a lo largo de un ciclo productivo lleva al rompimiento de los brotes de fructificación de la frambuesa, lo cual provoca bajas en el rendimiento. Esto se suma al incremento del riesgo de infecciones de tipo fúngicas causadas por patógenos que entran por las heridas de los brotes dañados causando una disminución del 30% a 40% de floricanes (cañas productoras de frutos) del año siguiente (Rabcewicz y Danek, 2010).

## **EFICIENCIA DE COSECHA**

La eficiencia de la cosecha mecanizada depende de las fuerzas de desprendimiento de la fruta y la frecuencia de vibración que aplica el agitador sobre ella. Lo ideal es aplicar frecuencias de vibración lo más bajas posibles, para así obtener un buen porcentaje de frutas maduras cosechadas.

El bajo rendimiento en la recolección mecánica se debe a cuatro situaciones: no retirar toda la fruta madura, retirar fruta inmadura, fruta caída al suelo y daños a la fruta y cañas. Si no se retira la fruta madura, no solo se reduce el peso total del fruto maduro



cosechado por pasada de la máquina, sino que también aumenta la propagación de enfermedades fúngicas. La fruta inmadura tiene que ser eliminada de las cosechas destinadas al mercado de fresco y el de IQF, pero una pequeña proporción de ella es aceptable en el procesamiento para pulpas (Smith y Ramsay, 1983).

### CONFIGURACIÓN GENERAL DE COSECHADORAS DE FRAMBUESAS

Como se mencionó, las máquinas cosechadoras son de agitación, por medio de dedos vibradores, o bien, por aire forzado, las cuales aún están en fase de desarrollo. Las que funcionan por apaleamiento disponen de al menos un par de tambores vibradores, montados sobre ejes verticales fijados uno al frente del otro, quedando de esta forma, uno a cada lado de la fila de plantas. Los tambores están equipados con dedos, los cuales penetran en la fila de plantas y están recubiertos de algún material blando, como el caucho. Para la vibración, disponen dentro de los tambores un par de pesos desequilibradores que giran para dar un movimiento oscilatorio de giro que puede variar en amplitud. Al mismo tiempo, los tambores pueden girar libremente por el contacto con las cañas de frambuesa. El material cosechado removido por los tambores agitadores cae en placas de captura, las cuales tienen cepillos ubicados en las porciones inferiores de las cañas, desviando el material hacia ascensores transportadores de caucho en cada uno de los lados de la máquina (Mason, 1985).

### FUERZA DE RETENCIÓN DE LA FRUTA

La fuerza de desprendimiento de los frutos maduros es muy variable, oscilando entre menos de 1N hasta más de 2N de fuerza de desprendimiento para algunas variedades.

**Tabla 1. Ejemplo de fuerza de desprendimiento (FRS) de la variedad Malling Jewel**

| Nivel de madurez          | FRS    |
|---------------------------|--------|
| Baja madurez              | 2,91 N |
| Ligeramente baja madurez  | 1,22 N |
| Madura                    | 0,94 N |
| Ligeramente sobre madurez | 0,66 N |
| Sobre madura              | 0,24 N |

(Smith y Ramsay, 1983)

Por eso, como anteriormente se mencionó, la calidad de la cosecha mecanizada dependerá tanto de las fuerzas de desprendimiento de la fruta como de la frecuencia de vibración de los dedos agitadores. Es necesario establecer una previa calibración al equipo cosechador, ya que una alta frecuencia lleva a un mayor porcentaje de frutos inmaduros cosechados. Investigaciones demostraron que las fuerzas de desprendimiento de la fruta tienen un impacto significativo en la calidad de cosecha mecánica. Una buena cosecha mecanizada requiere de una baja tasa de frecuencia en los agitadores, una baja fuerza de desprendimiento por parte del fruto, y una marcada diferencia en la fuerza de desprendimiento de un fruto maduro con un fruto verde. Estos valores dependen de la variedad, condiciones agroclimáticas, nutrición y estado de salud de la planta. Se han desarrollado modelos matemáticos de la eliminación mecánica de la fruta basada en un péndulo, que se considera formado por la fruta y las cañas que se agitan de una manera conocida por la cosechadora. Tal análisis calcula la frecuencia y la longitud de trabajo a la cual debe la máquina operar con el fin de suministrar una frecuencia resonante a la fruta o la fuerza suficiente en la fruta para la extracción. Este enfoque ha tenido éxito en el estudio de la recolección mecánica de muchas frutas, por ejemplo, manzanas, duraznos, aceitunas y café.



La fuerza de retención de la fruta (FRS: Fruit retention strength; unidades en Newton) de una frambuesa es la fuerza requerida para tirar de la baya y extraerla de la planta. Existe una relación entre la FRS y la madurez de la fruta. Si la frambuesa se balancea como un péndulo, por la sacudida aportada por los dedos agitadores, los valores típicos de la fuerza que experimentaría se podrían calcular. Un modelo matemático de esto sería un péndulo que comprende una masa  $M$  (en kg), que representa a la frambuesa, y una rígida longitud fija  $L$  (en m), que representa el tallo. Un dedo en un movimiento armónico simple se mueve del extremo del tallo, mientras que la frambuesa se balancea hacia el otro extremo. La equiparación de las fuerzas tangenciales al movimiento se pueden expresar mediante la siguiente ecuación:

$$L - (2\pi f)^2 x \sin(2\pi f t) \cos\theta = -g \sin\theta$$

Donde los dedos vibran a una frecuencia  $f$  (en Hz), con longitud de los mismos de  $x$  (en m),  $\theta$  viene siendo el ángulo (en radianes) que a través de él se mueve el tallo desde su posición de reposo.  $g$  es la aceleración (en m/s<sup>2</sup>) producidas por la gravedad y  $t$  es el tiempo (en s). La fuerza  $F$  (en N) que actúa en la dirección del tallo es la responsable de la eliminación de la fruta. Se puede calcular mediante la siguiente expresión (Smith y Ramsay, 1983):

$$F = M(2\pi f t)^2 x \sin(2\pi f t) - M g \cos\theta$$

## CONCLUSIONES

La producción de frambuesas en Chile, si bien deja muchos beneficios, aún no está totalmente desarrollada. Una correcta implementación de tecnologías puede convertir a la cosecha mecanizada en una opción rentable, pero aún falta mucho que mejorar. Seguir avanzando en la mejora de la eficiencia de cosecha dependerá de la cría de cultivares con pedicelos fuertes para reducir la caída de frutos inmaduros e idear una manera más selectiva de sacudir los frutos para que todas las frambuesas maduras sean retiradas en la cosecha. Además, es importante realizar un trabajo de extensión agrícola para motivar a los agricultores que pretenden mecanizar la cosecha, establecer resistentes sistemas de conducción (postes y alambres), ampliar el espacio para permitir entrada de maquinaria al huerto, así como elegir variedades mejor adaptadas a la cosecha.

## AGRADECIMIENTOS

A los profesor Claudio Fredes M. y Constantino Valero U. por guiarme en el tema, prestándome su ayuda y tiempo, y sobre todo a mi familia, por darme la oportunidad de complementar mis estudios en España.

## BIBLIOGRAFÍA

- Chile Potencia alimentaria (2006) [en línea]. Disponible en <http://potenciaalimentaria.bligoo.com/content/view/1780/Cosecha-mecanica-de-berries.htm>. Fecha de consulta: viernes, 13 de marzo de 2015.
- López C. (2003). Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. Boletín de servicios agrícolas de la FAO, 151.
- Mason D. T., 1985. J. Agric. Engng Res., 31: 223-230.
- Odepa 2014. [en línea]. Disponible en <http://www.freshplaza.es/article/80831/Chile-Se-prev%C3%A9-una-ca%C3%ADa-de-los-precios-de-la-frambuesa-para-2014>. Fecha de consulta: miércoles, 18 de marzo de 2015.
- Rabcewicz J., Danek J., 2010, Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 18(2): 239-248.
- Smith E. A., Ramsay A. M., 1983, J. Agric. Engng Res., 28: 21-32.

## **SESIÓN P2**





## TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE TOMATE: PROTOCOLO

Domínguez, José; Carrillo, Laura; González, Mar  
Tutores: Vicente-Carbajosa, Jesús; Medina Alcázar, Joaquín

Centro de Biotecnología y Genómica de plantas (UPM-INIA). Campus de Montegancedo. Autovía M40 km38,  
28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid).  
jose.dominguez.figueroa@gmail.com

### RESUMEN

El tomate es una de las especies hortícolas de mayor importancia agronómica y además presenta un ciclo de vida relativamente corto, por lo que resulta ser un modelo interesante para el estudio funcional de genes de interés. En este trabajo se describe la metodología para llevar a cabo la transformación genética de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), en concreto de la variedad comercial MoneyMaker. Esta metodología supone una herramienta fundamental para la mejora genética de especies vegetales mediante la biotecnología. La infección para la transformación se realiza mediante un co-cultivo de explantes de cotiledones y *Agrobacterium tumefaciens*, previamente transformada con un plásmido binario que porta el gen de interés. Posteriormente, comienza la regeneración de plantas completas en distintos medios de cultivo. Una vez formadas las raíces, las plantas se pasan a tierra y se llevan al invernadero para más tarde proceder a los análisis moleculares correspondientes.

**Palabras clave:** Mejora genética, co-cultivo, *Agrobacterium tumefaciens*.

### INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una especie dicotiledónea perteneciente a la familia *Solanaceae*, que presenta un ciclo de vida corto, facilidad de polinización y propagación vegetativa (Foolad, 2007) y un genoma diploide relativamente pequeño. Por otro lado, el tomate es el segundo cultivo hortícola más importante a nivel mundial (Pandey et al., 2011). La producción mundial de tomate en el año 2012 supuso 161,7 millones de toneladas (datos obtenidos de: [www.fao.org](http://www.fao.org); Food and Agriculture Organization of the United Nations). Estas características convierten al tomate en un sistema modelo interesante para la investigación genómica de plantas. La transformación genética es una herramienta fundamental y de gran interés para el posible desarrollo de nuevas variedades vegetales; uno de los principales objetivos es la mejora de la producción, haciendo frente a los serios efectos negativos que causan las condiciones ambientales adversas como salinidad, sequía y temperaturas extremas. Además, en un futuro cercano se espera que estos estreses abióticos adquieran mayor importancia como consecuencia del cambio climático al que nos enfrentamos (Rötter et al., 2015).

En este trabajo se describe un método de transformación genética de tomate (variedad MoneyMaker), mediante co-cultivo de explantes de cotiledones con la especie bacteriana *Agrobacterium tumefaciens*, ampliamente utilizada por su facilidad de transmitir ADN foráneo al genoma de especies vegetales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Germinación de semillas

Las semillas (aproximadamente 60 semillas por transformación) se mantienen en agitación en una solución de desinfección (2.5% NaClO y 0.01% Tween 20 ®) durante 10 minutos. A continuación, en una campana de flujo laminar, se retira la solución y se



realizan 5 lavados con agua destilada y estéril. Para facilitar la germinación, se colocan las semillas sobre papel de filtro humedecido en placas de Petri en condiciones de oscuridad a 22°C. Tras 48-72 horas, las semillas se pasan a un medio de germinación GM (Tabla 1) y se llevan a una cámara de crecimiento (22/18 °C, 16/8 horas luz/oscuridad) en la que permanecen 12 días, hasta que los cotiledones alcancen el tamaño adecuado para la preparación de los explantes.

### **Preparación de los explantes**

A partir de plantas crecidas en condiciones de esterilidad, se separan los cotiledones y se realizan heridas con ayuda de un bisturí, eliminando el peciolo y los bordes (Figura 1), lo que favorecerá la infección de *A. tumefaciens*. A continuación, los explantes se colocan en placas de Petri con medio de pre-cultivo PCM (Tabla 1), orientados con el envés hacia abajo y se mantendrán dos días en oscuridad a 22/18 °C (16/8 horas luz/oscuridad).

**Figura 1. Cotiledones de tomate. Se indica la orientación de los cortes que se realizan en la preparación del explante para facilitar la infección de *A. tumefaciens*.**



### **Preparación del cultivo bacteriano**

Partiendo de un aislado de *A. tumefaciens*, cepa LBA4404, previamente transformada con un plásmido binario que porta el gen de interés y genes que facilitaran la selección de transformantes, se prepara un pre-cultivo con 10 ml de medio LB (Bertani, *et al.*, 1951) suplementado con el agente selectivo correspondiente y se incuba durante dos días (28°C, 200 rpm). Posteriormente, el pre-cultivo de *Agrobacterium* se inocula en un matraz de Erlenmeyer con 250 ml de medio LB suplementado con el agente de selección y se incuba durante una noche (aproximadamente 16 horas) (28°C, 200rpm). Tras alcanzar una densidad óptica ( $DO_{600nm}$ ) de 0,4-0,6 el cultivo se centrifuga durante 10 minutos a 6000 rpm. Se decanta el sobrenadante y el precipitado se resuspende en 250 ml de medio de co-cultivo CCM (Tabla 1) desprovisto de agar y suplementado con acetosiringona (3'5'-dimethoxy-4'-hydroxiacetophenone) que facilitará la infección.

### **Co-cultivo de explantes y *A. tumefaciens***

El cultivo de *Agrobacterium* en medio CCM se distribuye en placas de Petri (150mm de diámetro) donde posteriormente se colocan explantes (aproximadamente 125). Este co-cultivo se incuba a temperatura ambiente durante 20 minutos y en agitación (50 rpm). Transcurrido este tiempo, se rescatan los explantes y se secan en papel de filtro estéril, para eliminar el exceso de bacterias; a continuación los explantes se colocan en placas de Petri con medio CCM sólido, donde permanecerán 3 días en oscuridad a 22°C.

### **Regeneración de plantas completas**

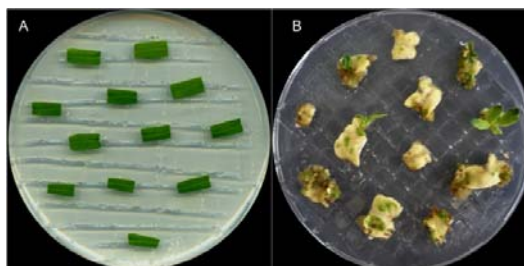
#### **Inducción de callogénesis**

Una vez finalizado el co-cultivo, los explantes deben ser lavados dos veces durante 15 minutos con la solución de lavado WM (Tabla 1). Tras el lavado, se secan los explantes con papel de filtro estéril y se transfieren a placas de Petri (Figura 2.A) con medio de inducción de callo no selectivo SIM-NS (Tabla 1) para inducir la formación de callo sin la presión de selección. Tras 2 días en la cámara de crecimiento, los explantes han de ser transferidos a placas de Petri (Figura 2.B) con medio de inducción de callo selectivo SIM-S (Tabla 1). Los explantes se cambian cada dos semanas a medio SIM-S fresco hasta la aparición de brotes.





**Figura 2. Explantes y formación de tejido calloso. (A) explantes en medio de inducción de callo. (B) Explantes tras sufrir callogénesis que presentan yemas y brotes.**



#### *Enraizamiento de los brotes y trasplante a tierra*

Los brotes, de 2 cm aproximadamente de longitud, serán cortados y trasplantados a botes de cultivo *in vitro* con medio de enraizamiento RM (Tabla 1).

Una vez que las plantas posean un sistema radicular bien desarrollado se podrán trasplantar a alveolos con tierra. Para facilitar una aclimatación progresiva taparemos las plantas con plástico 2 días, al tercero haremos pequeños agujeros al plástico y se retirará al quinto día (Figura 3.A). A los 15 días, las plantas pueden ser trasplantadas a macetas con tierra y llevadas a invernadero, donde podrán continuar su ciclo (Figura 3.B) y producir frutos y semillas.

**Tabla 1. Componentes necesarios para la preparación de un litro de medios de cultivo *in vitro*. El pH se ajusta a 5,7 antes de esterilizar los medios de cultivo mediante calor húmedo en autoclave (120°C, 20 min). Los compuestos termolábiles (antibióticos, hormonas y vitaminas) se añaden al medio de cultivo cuando estos tengan una temperatura adecuada.**

|  | GM  | PCM | CCM | WM  | SIM-NS | SIM-S | RM  |
|--|-----|-----|-----|-----|--------|-------|-----|
| <b>MS basal (g)</b>                    | -   | 4,3 | 4,3 | 4,3 | 4,3    | 4,3   | 4,3 |
| <b>MS con vitaminas Gamborg B5 (g)</b> | 4,4 | -   | -   | -   | -      | -     | -   |
| <b>Agar (g)</b>                        | 8   | 8   | 8   | -   | 8      | 8     | 8   |
| <b>Sacarosa (g)</b>                    | 10  | 30  | 30  | 20  | 30     | 30    | 20  |
| <b>Myo-Inositol (mg)</b>               | -   | 100 | 100 | 100 | 100    | 100   | 100 |
| <b>Vitaminas SH (mL)*</b>              | -   | 10  | 10  | -   | 10     | 10    | -   |
| <b>Ácido indolacético (mg)</b>         | -   | 4   | 4   | -   | 4      | 4     | 0,1 |
| <b>Kinetina (mg)</b>                   | -   | 4   | 4   | -   | 4      | 4     | -   |
| <b>Zeatina (mg)</b>                    | -   | -   | -   | -   | 1      | 1     | -   |
| <b>Acetosiringona (mL)</b>             | -   | -   | 2   | -   | -      | -     | -   |
| <b>Agente selectivo</b>                | -   | -   | -   | -   | -      | +     | +   |

\* La solución vitamínica SH se prepara previamente y se almacena a -20°C, protegida de la luz (Shahin, 1985).

**Figura 3. Trasplante a tierra. (A) Planta de tomate trasplantada y cubierta con plástico. (B) Planta de tomate en invernadero.**

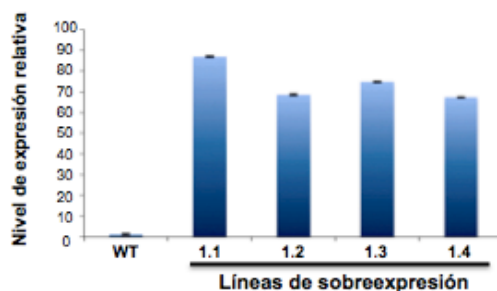




## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para demostrar que las plantas de tomate regeneradas son transgénicas y por tanto expresan el gen de interés, analizamos los niveles de expresión de ARNm del transgen (Figura 4). Podemos observar un incremento de la expresión del transgen en las líneas generadas en comparación con las plantas control, lo que indica que la transformación ha sido exitosa y, por lo tanto, nuestro protocolo de transformación puede ser útil para generar nuevas variedades de tomate.

**Figura 4. Expresión del transgen en líneas analizadas mediante qRT-PCR. Los datos se muestran como expresión del ARNm del transgen relativa al ARNm del gen *UBQUITINA* de tomate.**



## CONCLUSIÓN

El protocolo descrito en este trabajo se fundamenta en las particularidades de la especie bacteriana *Agrobacterium tumefaciens*. Ésta, posee un plásmido denominado T-DNA, en el que reside su propiedad patogénica. Este plásmido es transferido por la bacteria a las células vegetales para ser integrado en el genoma de la planta y utilizar la maquinaria de la célula (Anami *et al.*, 2013). Gracias a la ingeniería genética, podemos eliminar los genes de virulencia que posee el T-DNA e introducir un gen de interés acompañado de genes destinados para la selección de transformantes.

Se ha descrito una herramienta biotecnológica para generar plantas transgénicas de tomate que puede ser útil para el estudio de genes de interés, así como para desarrollar nuevas variedades que presenten una mayor resistencia frente a diferentes estreses abióticos o bióticos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Anami S., Njuguna E., Coussens G., Aesaert S. y Van Lijsebettens M., 2013. *Int J Dev Biol.*, 57: 483-494.  
Bertani G., 1951. *J Bact.*, 62: 293-300.  
Foolad MR., 2007. *Int J Plant Genomics.*, 2007: 64358.  
Murashige T. y Skoog F., 1962. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.  
Pandey Shashank K., Nookaraju Akula P., Chandrama Upadhyaya, Mayank A. Gururani, Venkatesh Jelli, Doo-Hwan Kim y Se Won Park, 2011. *Crop Sci.*, 51: 2303-2324.  
Rötter R. P., Tao F., Höhn J. G. y Palosuo T., 2015. *J Exp Bot* doi: 10.1093/jxb/erv098.  
Shahin E.A., 1985. *Theor Appl Genet.*, 69: 235-240.



## VERDADES, MITOS Y LEYENDAS (URBANAS) SOBRE CACTUS

González, Diego

Tutor: Moreno, Santiago

Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

d.gonzalez@alumnos.upm.es

santiago.moreno@upm.es

### RESUMEN

Los cactus o cactáceas son plantas que han evolucionado para adaptarse principalmente a medios muy áridos en los que cualquier otra especie no podría desarrollarse. Han ido incorporando adaptaciones encaminadas al almacenaje de agua (suculencia o carácter craso) o a evitar su pérdida (fotosíntesis CAM, formas redondeadas, hojas transformadas en espinas, etc.). En general son plantas muy atractivas. A pesar de que tienen gran importancia en términos económicos, y de que su uso ornamental está generalizado en todo el mundo, están rodeados de muchos mitos y leyendas urbanas. Tomando como base los ejemplares del módulo de suculentas del Aula Verde Invernadero de los Campos de Prácticas de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid este trabajo pretende desmontar esos mitos, leyendas y CRASOS errores.

**Palabras clave:** *cactus, mitos, adaptaciones*

### MORFOLOGÍA

#### Todos los cactus tienen espinas

Puede que sí sea cierto, pero hay especies que bien por evolución natural o por manipulación genética han perdido casi totalmente las espinas. Es el caso de cultivares de *Opuntia ficus-indica* o especies como *Lophophora williamsii* o *Astrophytum myriostigma*. También existe un género, *Ariocarpus*, cuyos ejemplares no tienen aspecto típico de cactáceas y sólo mantienen las espinas mientras son jóvenes. Otras especies como el *Cephalocereus senilis* han optado por la emisión de espinas modificadas en forma de largos pelos (aislantes del calor, frío y radiación solar o captadores de rocío) que hacen creer que no tiene espinas, pero realmente están ocultas bajo ese manto.

#### Las chumberas tienen hojas engrosadas

Chumbera es el nombre común de cactus de una especie de cactus, *Opuntia ficus-indica*. Lo que parecen hojas, comúnmente llamadas palas, son en realidad tallos engrosados. Las hojas han quedado reducidas a espinas.

#### ¿Son de verdad las flores que vemos en los cactus a la venta en “chinos” y otros establecimientos?

Muchas veces se venden cactus y otras suculentas con unas sospechosas flores muy llamativas por sus brillantes colores. ¿Son realmente de propias de la planta? La respuesta es: en general NO. Se trata de flores de plantas del género *Helichrysum* (Asteraceae), probablemente *H. bracteatum*, que tras ser desecadas y tintadas se pinchan en la planta, o lo que es peor, se pegan con adhesivo de fusión en caliente (*hot-melt*), que produce quemaduras en la planta. A veces las flores no son postizas y se pueden distinguir de las pinchadas por sus tonalidades irregulares, presencia de estambres o ser, por lo general, numerosas.

### FISIOLOGÍA

#### ¿Realizan las cactáceas la fotosíntesis por el llamado metabolismo ácido de crasuláceas (CAM)?

La respuesta es SÍ. El metabolismo CAM permite llevar a cabo la fotosíntesis minimizando pérdidas de agua por los estomas. Ello se consigue manteniendo los estomas cerrados de día y abiertos de noche. De noche se incorpora el CO<sub>2</sub> que se va "almacenando" como ácido málico. De día con los estomas cerrados a partir del ácido



málico se obtiene  $\text{CO}_2$  para su incorporación en el ciclo de Calvin. Esta fotosíntesis especial fue descubierta a finales de siglo XIX en plantas de la familia de las crasuláceas pero luego se encontró también en especies de otras familias: cactáceas, aizoáceas, asparagáceas, bromeliáceas, compuestas, etc.

### **Algunas cactáceas son polinizadas por murciélagos**

Esto es cierto. Las especies en las que ocurre han evolucionado para abrir sus flores únicamente por la noche y volverlas a cerrar durante el día. Es una estrategia evolutiva para reducir la transpiración y la pérdida de agua. Los encargados de realizar la polinización son en este caso murciélagos o mariposas nocturnas. En comparación con otros polinizadores, los murciélagos tienen áreas de campeo más amplias y por tanto garantizan mejor la polinización cruzada.

### **Entre los cactus hay especies milenarias**

Es verdad. Un ejemplo lo tenemos en la Isla del Pescado o la Isla Incahuasi, dentro del desierto del Salar de Uyuni (Bolivia). Allí abundan enormes ejemplares centenarios, los más viejos de más de 900 años, de la especie *Echinopsis atacamensis* (*Trichocereus pasacana*), cuyo nombre vincula a esta especie al desierto más seco de la tierra, el desierto de Atacama (Chile). Aunque muy longevos estos ejemplares no parecen tan viejos ya que, salvo en la base de la planta, la epidermis se mantiene verde y con capacidad fotosintética a lo largo de toda la vida.

## **DISTRIBUCIÓN**

### **La mayoría de las cactáceas son americanas pero hay algunas europeas como por ejemplo la chumbera**

La chumbera también es como el resto de los cactus americana, aunque se ha naturalizado en algunas partes del sur de Europa y de África. En la provincia de Almería, en el desierto de Tabernas y otras localidades que están entre las zonas más áridas de Europa, se puede encontrar una pequeña planta (endemismo iberonorteafricano) con aspecto de cactus, el chumberillo de lobo o *Caralluma europaea*. A pesar de su aspecto o de su nombre vernáculo no se trata de una cactácea sino una apocinácea, es decir pertenece a la familia botánica en la que también están las mediterráneas adelfas.

### **En las zonas más áridas del archipiélago canario hay especies endémicas de cactus**

No, todos los cactus tienen su centro de origen y diversidad en América. Hay especies suculentas que pertenecen a otras familias, principalmente euforbiáceas y compuestas, con un aspecto que puede recordar a algunos cactus. *Euphorbia canariensis* es un claro ejemplo (ver Fig. 1). Es un caso claro de convergencia evolutiva, en el que plantas muy distantes taxonómicamente y de lugares de origen diferentes han llegado al mismo tipo de adaptaciones que les confieren aspecto similar. Si nos fijamos con detalle, sí hay diferencias. La espina de las cactáceas es una hoja transformada que nace de una pequeña protuberancia llamada areola, una estructura exclusiva de este tipo de plantas. En la espina interviene la epidermis de la hoja y otros tejidos internos. En cambio, en *E. canariensis* y otras euforbiáceas suculentas las espinas son excrecencias epidérmicas que no tienen conexión directa con el interior de la planta. Si se arrancan, con ellas se arranca también parte de la epidermis, pero no tejidos internos, a diferencia de las cactáceas.



**Figura 1. Tallo engrosado y con espinas de *Euphorbia canariensis*, una euforbiácea con aspecto decactácea**



Foto: Tela Botanica (www.tela-

### **Fuera de los tórridos y secos desiertos no hay cactáceas**

No son tan conocidos pero sí existen cactus fuera de los desiertos. En zonas tropicales de Sudamérica con notables precipitaciones, existen cactus que utilizan árboles y arbustos como soporte elevado para conseguir mejor iluminación. Son los llamados cactus epifitos, algunos géneros importantes son: *Selenicereus*, *Hylocereus*, *Rhipsalis*, *Schlumbergera*, *Disocactus*, *Epiphyllum*, *Hatiora*, *Rhipsalidopsis*. Al tener poco o ningún contacto con el reservorio de agua que representa el suelo, necesitan mantener los mecanismos de adaptación y succulencia del resto de los cactus.

### **USO**

#### **Más allá de su interés ornamental los cactus no son demasiado útiles**

Tanto en su lugar de origen como en otras regiones del mundo, los cactus se han utilizado en cercados (*Opuntia spp.*), como fruta fresca: pitahaya (*Selenicereus undatus*, *Hylocereus megalanthus*), higo chumbo o tuna (*Opuntia ficus-indica*); como verdura (en algunas zonas de México las palas de *O. ficus-indica* son consumidas como verdura o se utilizan como alimento del ganado), para fabricación del tinte natural carmín (*O. ficus-indica* parasitada por la cochinilla del carmín *Kermes vermilio*). Hay especies conocidas por sus propiedades alucinógenas que han sido utilizadas en rituales religiosos (*Lophophora williamsii*, *Echinopsis pachanoi*). El internacionalmente conocido tequila mexicano no se elabora a partir de cactus sino de una asparagácea, el *Agave tequilana*, una especie también adaptada a la aridez.

#### **¿Son algunos cactus especialmente capaces de absorber radiaciones electromagnéticas?**

Es muy frecuente encontrar en los centros de jardinería cactus que se venden por su supuesta capacidad para absorber radiaciones electromagnéticas. Se propone su ubicación cerca de la pantalla del ordenador. El cactus más empleado para este fin suele ser *Cereus peruvianus* (Fig. 2). Se trata de otra estrategia de marketing basada en un mito ya que no hay ningún estudio científico que avale esta propiedad de los cactus. Quizás no sea del todo falso porque cualquier cuerpo que contenga agua en su composición absorbe una mínima cantidad de radiación. Ya que las ondas electromagnéticas se desplazan en línea recta, para que el cactus (*C. peruvianus* o cualquier otro) cumpliera su cometido debería situarse entre la pantalla y el usuario, algo que no sería muy práctico.



**Figura 2. Cactus para las radiaciones (*Cereus peruvianus*)**



González

### CULTIVO

#### **Los cactus no necesitan agua de riego o fertilización, se cuidan solos**

Esto es una creencia muy extendida. Es verdad que la mayoría de suculentas no necesitan apenas agua para sobrevivir en sus hábitats naturales, pero no ocurre lo mismo cuando están confinados en una maceta dentro de una casa donde no llueve jamás y jamás hay rocío matutino. Si un cactus globoso empieza a arrugarse conviene regar. Los cactus responden muy bien a la fertilización especialmente cuando se incorpora al agua de riego o se usa abono foliar.

#### **... y los cactus de colores ¿son injertos?**

Se comercializan cactus que su cuerpo parece un mosaico de colores. Estos cactus se obtienen mediante injerto. Quizás el caso más conocido sea el de *Gymnocalycium mihanovichii* presentado en varios colores injertado sobre *Hylocereus* sp. Originalmente los injertos se hacían con cactus mutantes espontáneos sin clorofila. En ausencia de clorofila, el mutante solo puede sobrevivir si es injertado sobre otra especie que realice la fotosíntesis por él. Las mutaciones actualmente se provocan mediante la emisión de determinados tipos de radiación y da lugar a los fenotipos de colores vivos de los "cactus mosaico". Además, también son frecuentes injertos con *Echinopsis chamaecereus* (*Chamaecereus silvestrii*) y las formas crestadas o monstruosas. Pero la aplicación más interesante de la técnica de injerto en cactáceas es la de transmitir vigorosidad y acelerar el crecimiento de cactus delicados. Los portainjertos empleados para este fin suelen ser del género *Pereskia*, uno de los dos únicos géneros de cactáceas que mantienen hojas membranosas (el otro es *Pereskia*).

### AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a Inmaculada y Beatriz del Real Jardín Botánico Juan Carlos I de Alcalá de Henares la dedicación y cariño con el que me mostraron la gran colección de suculentas que alberga el jardín. Asimismo, agradecer a Domingo, del vivero Corma de Madrid su entusiasmo al mostrarnos la interesantísima variedad de cactus y otras especies vegetales.

### BIBLIOGRAFÍA

- Alonso de la Paz F.J., 2006. Cactus y otras suculentas. Susaeta Ediciones S.A., Madrid, 96 pp.  
López Sáez J.A., 2000. Botánica mágica y misteriosa. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 416 pp.  
Lozano J., 2008. Atlas ilustrado de los cactus. Susaeta Ediciones S.A., Madrid, 252 pp.  
Mace T. & S., 2009. Cactus Basics. Octopus Publishing Group Ltd., Londres, 128 pp.  
Nelson L.S., Shih R.D., Balick M.J., 2007. Handbook of poisonous and injurious plants. The New York Botanical Garden, Nueva York, 340 pp.  
Nessmann J., 1994. Guía para el cuidado de los cactus y plantas crasas. Susaeta Ediciones S.A., Madrid.



## IMPACTO ECONÓMICO DE LA MEJORA DE LA PRODUCTIVIDAD EN LA RENTABILIDAD DEL SECTOR VACUNO DE CARNE EN ESPAÑA

López-Paredes, Javier

Tutor: Alenda, Rafael

*Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agrónomos, UPM. Ciudad Universitaria, s/n, 28040, Madrid.*

*javier.lopez.paredes.21@gmail.com*

### RESUMEN

Los resultados publicados según las bases de datos oficiales muestran una baja fertilidad de la población española de vacuno de carne durante los últimos años (MAGRAMA, 2015). Los caracteres más importantes relacionados con la fertilidad son la edad al primer parto, el número de terneros registrados por vaca y año y el intervalo entre partos. En la situación Española, el número de terneros registrados por vaca y año es de 0,68 terneros registrados por vaca y año, la edad media al primer parto de 3 años y el intervalo entre partos medio es de 518 días.

Estos datos muestran la baja productividad del sector nodriza. Esta baja productividad tiene una repercusión económica para el sector. En el trabajo realizado, mediante la utilización de un modelo bioeconómico se estima el impacto económico que supondría la mejora de la fertilidad de las explotaciones para toda la población española.

Según el trabajo realizado, el número de terneros registrados podría incrementarse en 561.944 terneros anuales. Este incremento tendría un impacto económico en el sector de 210.306.259 € anuales para toda la población de nodrizas en España.

Estos datos evidencian la importancia de establecer un programa de mejora de rentabilidad de las explotaciones, que ataje el problema de productividad que padece el sector.

**Palabras clave:** *vacuno de carne, fertilidad, función de beneficio.*

### INTRODUCCIÓN

Según el MAGRAMA (2014) los resultados productivos del sector vacuno de carne español muestran una baja fertilidad y una elevada edad al primer parto para un total de 1.873.147 nodrizas (SITRAN, 2014). El número de terneros registrados por vaca y año se sitúa en 0,68 y el primer parto en más de 3 años de edad para el 44 % de los primeros partos registrados. Esta improductividad tiene una notable importancia en la economía de las explotaciones actuales.

El objetivo de este trabajo es cuantificar la pérdida económica que supone para el sector vacuno de carne esta situación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se basa en los datos medios publicados sobre fertilidad por el MAGRAMA (2014). Se analiza la mejora que se produciría ante un aumento de la fertilidad expuesta en los datos del MAGRAMA (2014), para una vaca tipo de 600 kg de peso vivo y una producción de leche media de 6 litros/día. Los terneros son destetados a los 6 meses de edad con un peso medio de 200 kg de peso vivo. Se ha considerado una mortalidad desde el parto al registro del ternero de 0,04 terneros muertos por parto y no se ha considerado mortalidad desde el registro del ternero al destete.

La metodología a emplear es la caracterización del sistema de producción mediante un modelo matemático, basado en el propuesto por Harris (1970). Según el cual, se desarrolla una ecuación que caracteriza el sistema de producción, en función de aquellos caracteres que son susceptibles de mejora por cualquier disciplina de la producción animal (Dickerson, 1970). El objetivo de este modelo matemático es determinar aquellas situaciones o animales que maximizan la relación entre ingresos y costes generados, eficiencia (Dickerson, 1970, Tess y Davis, 2002).



La *Rentabilidad* de una explotación se expresa como:

$$\text{Rentabilidad} = N \times P \times (\text{Ingresos} - \text{Coste de producción})$$

Donde *Rentabilidad* es €/año, *N* es el número de nodrizas, *P* es número de terneros comercializados/vaca/año, *Ingresos* por ternero comercializado al destete y *Coste de Producción* es coste de suplementación de la nodriza (*CN*) y su reposición (*CR*), expresados en €/ternero comercializado (€/TC).

La Productividad (*P*) se calcula como:

$$P = (Tr - R) \times (s)$$

Donde *Tr* es el número de terneros registrados/vaca/año (*Tr* se calcula en función del número de partos por vaca y año y la mortalidad de los terneros hasta el registro) menos el número *R* de terneras destinadas a reposición por vaca y año y *s* la supervivencia desde registro al destete.

La reposición (*R*) se calcula como la inversa del número de terneros registrados por vaca (*n*) multiplicada por los terneros registrados por vaca y año (*Tr*).

$$R = (1/n) \times Tr$$

*n* depende de la edad último parto (*D*), la edad al primer parto (*Epp*), el intervalo entre partos (*lpp*) y la mortalidad hasta el registro (*m*).

$$n = ((D - Epp)/lpp) + 1 \times (1 - m)$$

Los *Ingresos* corresponden a un ternero comercializado al destete (2,3\* €/kg PV, \*media entre machos y hembras).

El *Coste de Producción* es el coste de suplementación de la nodriza (*CN*) y su reposición (*CR*) expresado en €/ternero comercializado. Se calcula como el coste por nodriza y año dividido entre la productividad (*P*).

$$\text{Coste Producción} = (CN + CR) / P$$

*CN* depende del peso vivo (*NE<sub>1</sub>*, necesidades energéticas\*), las disponibilidades forrajeras (*DF*), el período entre dos partos (*lpp*) y el precio de suplementación (*psup*). Para calcular el coste medio anual, multiplicamos por *Tr*.

$$CN = (lpp \times (NE_1 - DF)) \times psup \times Tr$$

*CR* depende de la reposición (*R*), peso vivo (*NE<sub>2</sub>*, necesidades energéticas novilla\*), el número de lotes de novillas (*b*) y el precio de suplementación (*psup*).

$$CR = R \times (NE_2) \times b \times psup$$

*b* depende de la edad al primer parto (*Epp*) y la edad al destete (*Ed*).

$$b = (Epp - Ed)/365$$

Se estima un coste de producción medio de 414 €/TC suponiendo un precio de 0,22 €/UFL (López-Paredes, 2013). \**NE<sub>1</sub>* y *NE<sub>2</sub>* calculadas según A'Gabriel y D'Hour (2007).

De esta forma los dos factores *Epp* e *lpp* inciden en el aumento o disminución de la productividad y de los costes de producción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los datos de edad al primer parto y de número de terneros registrados por vaca y año (MAGRAMA, 2014) y la estimación de intervalo entre partos, mortalidad de los terneros hasta el registro (se ha considerado una mortalidad de 0,04 terneros muertos por parto, desde el nacimiento hasta el registro), reposición, número de lotes de novillas y productividad para la situación actual y el objetivo alcanzable (24 meses de *Epp* y 365 días de *lpp*).





**Tabla 1. Edad al primer parto (Epp), Intervalo entre partos (lpp), Mortalidad de los terneros hasta el registro (M, terneros muertos/terneros nacidos/año), Terneros registrados por vaca y año (Tr), Reposición (R, ternera reposición/vaca/año), número de lotes de novillas presentes en la explotación y Productividad (P, ternero comercializado/vaca/año).**

|                     | Epp | lpp | M    | Tr   | R    | b   | P    |
|---------------------|-----|-----|------|------|------|-----|------|
| Situación 2014      | 36  | 514 | 0,04 | 0,68 | 0,12 | 2,5 | 0,56 |
| Objetivo alcanzable | 24  | 365 | 0,04 | 0,96 | 0,11 | 1,5 | 0,85 |

La mejora de los caracteres Epp e lpp supondría un aumento de 0,28 terneros registrados por vaca y año (Tr) y una disminución de las necesidades de reposición por vaca y año (R). Considerando una edad de último parto (D) de 10 años, la Reposición anual (R) disminuiría en 0,007 terneras destinadas a reposición por vaca y año y el número de lotes de novillas (b) disminuiría en 1 lote. La productividad aumentaría en 0,29 terneros comercializados por vaca y año. No se ha considerado la posible mejora producida por la disminución de la mortalidad desde el parto hasta el registro del ternero.

La Tabla 2 muestra los resultados de ingresos, costes y margen en €/ternero comercializado y año, la eficiencia (ingresos/costes) y el número de terneros comercializados para los 1,87 millones de nodrizas y el margen obtenido en €/anuales para todo el sector.

**Tabla 2. Ingresos y Costes (€/TC), Margen (€/TC) y Eficiencia (Ingresos/Costes) y Número de terneros comercializados al destete y Margen obtenido para la población de 1,8 millones de nodrizas en la situación actual y alcanzado el objetivo de fertilidad.**

|                            | Ingresos (€/TC) | Costes (€/TC) | Margen (€/TC) | Eficiencia | Número de terneros comercializados/año | Margen (€/año) |
|----------------------------|-----------------|---------------|---------------|------------|--|----------------|
| <i>Situación actual</i>    | 463             | 414           | 49            | 1,12       | 1.055.255                              | 52.059.201     |
| <i>Objetivo alcanzable</i> | 462             | 298           | 164           | 1,55       | 1.590.094                              | 262.365.460    |

Según estos datos para la población española de 1.873.147 nodrizas (SITRAN, 2014), el número de terneros comercializados al destete aumentaría en 534.839 terneros anuales (Tabla 2). Esto se debe principalmente a la disminución del lpp en 149 días, suponiendo un mayor número de partos anuales (542.994 partos) y a una disminución de la Epp en 1 año, lo que hace que disminuyan el número de terneras destinadas a reposición (13574 terneras para la situación actual).

Según los resultados, el Margen (Ingresos - Costes) podría aumentar en 210.306.259 € anuales para toda la población española de nodrizas si se alcanzase el objetivo de fertilidad. Esto es debido en primer lugar, a un aumento de los terneros comercializados. En segundo lugar, a un aumento del Margen por ternero comercializado, debido a una disminución de los costes de producción (115 €/TC). Produciéndose un aumento de los ingresos generados en proporción a los costes incurridos (Eficiencia) de 0,43 € de ingresos por cada € gastado por ternero comercializado, pasando de 1,12 a 1,55 (Tabla 2). Estos resultados expresan el potencial del sector y la necesidad de la mejora de la productividad como un objetivo prioritario, en busca de la eficiencia en la producción. Para alcanzar estos objetivos sería necesario establecer un amplio control de rendimientos informatizado de las explotaciones de nodrizas, englobando al menos al 50 % de la población. En este control de rendimientos se recogería información de todos los



animales de la explotación en relación a todos los caracteres que inciden en la rentabilidad de la explotación (fertilidad y producción).

La mejora de los resultados se conseguiría a través de un “benchmarking” a nivel de explotación y por vaca nodriza (intra e inter explotaciones). Se identificarían las diversas limitaciones productivas, estableciendo las mejoras en el manejo, sanidad, genética y nutrición que optimicen el proceso de producción y optimicen los resultados de cada explotación y por ende del sector en su conjunto.

## CONCLUSIONES

Los datos publicados por el MAGRAMA (2015) evidencian la baja productividad del sector nodriza español, causado por un problema de fertilidad de la cabaña.

Algunas de las principales causas son la alta edad al primer parto y el elevado intervalo entre partos de las nodrizas en España.

La mejora de los caracteres relacionados con la fertilidad tendría un impacto económico inmediato en el sector, pudiéndose comercializar un 29% más de terneros al año en una situación óptima. Además, esta mejora de fertilidad supondría una disminución de los costes de producción por cada ternero comercializado y por tanto un aumento del beneficio de la explotación.

El impacto económico estimado en el sector si se alcanzase el objetivo sería de 210.306.259 €, lo que muestra la importancia del establecimiento de un programa de mejora de la rentabilidad de las explotaciones.

Sería necesario identificar los problemas de cada explotación, para lo cual sería necesario implementar un amplio control de rendimientos que permita identificar la problemática global y de cada explotación e incidir en ellas mediante decisiones de manejo, nutrición, genética o sanidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agabriel, J. & D’Hour, P. 2007. Alimentations des vaches allaitantes In: Quae, E. (Ed.), Alimentation des bovins, ovins et caprins. INRA, pp. 58-65.
- Dickerson, G.E. 1970. Efficiency of animal production - molding the biological components. Journal Animal Science 30, 849-859.
- Harris, D.L. 1970. Breeding for efficiency in livestock production: defining the economic objectives. Journal Animal Science 30, 860-865.
- López-Paredes, J. 2013. TFC, Metodología para la determinación de los objetivos de selección en un programa de mejora genética. Universidad Politécnica de Madrid. Resultados en vías de publicación.
- MAGRAMA. 2014. Estudio del sector español de vacas nodrizas 2014. SG Productos Ganaderos.
- SITRAN, 2014. Estudio Del Sector Español De Vacas Nodrizas
- Tess, M. W., & Davis, K. C. 2002. Gordon Dickerson: Defining economic efficiency of beef production. In Proc. Beef Improv. Fed. Conf. [http://www.bifconference.com/bif2002/BIFsymposium\\_pdfs/Tess\\_02BIF.pdf](http://www.bifconference.com/bif2002/BIFsymposium_pdfs/Tess_02BIF.pdf) Accessed Apr (Vol. 20, p. 2003).



## RESPUESTA PRODUCTIVA DE CONEJAS A LA INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3 EN SU DIETA

Laredo, Marta; Rodríguez, María; Velasco, Beatriz

Tutor: Rebollar, Pilar G.

*Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid*

*m.lalvarez@alumnos.upm.es, maria\_rodriguez\_francisco@hotmail.com, beatrizvmunoz@hotmail.com*

### RESUMEN

Un total de 74 conejas nulíparas se alimentaron desde las 10 semanas de edad con dos piensos isofibrosos, isoenergéticos e isoproteicos formulados con dos fuentes de grasa diferentes: manteca (grupo C; n=37) y un suplemento a base de aceite de salmón rico en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-3 (grupo P, n=37) con un nivel de inclusión de 6% (30 g/kg) desde la recría hasta el destete. El consumo tendió a ser menor a lo largo de todas las etapas productivas en las conejas suplementadas ( $P<0,1$ ), sin embargo no afectó a la producción de leche, ya que fue igual en ambos grupos, al igual que la fertilidad, el peso de los gazapos al nacimiento, el número de destetados y la mortalidad. Sin embargo, se observaron mejores resultados de prolificidad (más nacidos vivos y menos muertos) en el grupo suplementado ( $P<0,05$ ), mientras que no se observaron diferencias relacionadas al tipo de destete, la GMD y, por tanto, el peso de los gazapos al destete fue menor en el grupo AGPI.

**Palabras clave:** AGPI n-3, producción, conejas.

### INTRODUCCIÓN

El tipo de alimentación recibida, el tamaño de camada que la coneja amamanta y el momento en que los gazapos son destetados son importantes factores que pueden modificar la cantidad y calidad de la leche producida (McNitt y Lukefahr, 1990). El suministro de niveles de inclusión bajos (7,5 g/kg), pero de manera prolongada de un suplemento rico en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-3 en el pienso de las conejas reproductoras, no afecta a la producción de leche y tiende a incrementar las concentraciones de progesterona en gestación, aumenta el tamaño de sus recién nacidos y disminuye la mortalidad a nacimiento (Rebollar et al., 2014). Con niveles de inclusión mayores la fertilidad a segundo parto mejora pero el consumo de pienso durante la primera lactación (15g/kg; Rodríguez et al., 2014) y el peso de los gazapos a destete disminuye (30g/kg; Febrel et al., 2015). El objetivo de este trabajo fue estudiar si este incremento en el nivel de suplementación de AGPI n-3 y un control de la lactación separando a las madres de sus camadas el día 21 de lactación puede afectar: 1) al consumo de las conejas, 2) a la producción de leche y 3) a sus parámetros productivos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 74 conejas híbridas (*Oryctolagus cuniculus*, Neozelandés blanco x Californiano), se distribuyeron al azar en 2 grupos alimentados con 2 piensos experimentales desde la recría hasta el primer parto. Ambos piensos tenían el mismo valor nutritivo e ingredientes (2400 kcal ED/kg, 36% FND y 16% PB) cambiando únicamente la fuente de grasa incorporada. En el pienso del grupo control (C; n = 37) se incorporó grasa mezcla (sebo y manteca) al 3%. Para el grupo AGPI (n = 37) se incluyó un suplemento al 6% (30 g/kg), procedente de aceite refinado de salmón (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España), con un contenido en extracto etéreo del 50%, concentrado en ácidos grasos (AG) n-3 [13% DHA, ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3), 3% DAPA, ácido docosapentaenoico (C22:5 n-3), 7% EPA, ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3), 7% de ácido octadecatetraenoico (C18:4 n-3) y 2% de ácido linolénico (C18:3 n-3)].



Cuando las conejas tenían un peso medio de  $4062 \pm 30,50$  g, a las 16 semanas de edad, se inseminaron artificialmente (IA) por primera vez con una dosis de  $20 \times 10^6$  espermatozoides en 0,5 ml de diluyente, (Magapor S.L., Zaragoza, España) y se indujo su ovulación con 20µg de Gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero, León, España). Las conejas estuvieron restringidas al 70% de sus necesidades diarias durante la recría (130 g/día) y se alimentaron *ad libitum* los diez días previos a la IA. A lo largo de las tres primeras semanas de gestación se restringieron de nuevo pero dispusieron de pienso *ad libitum* durante la última semana de la misma y durante toda la lactación.

A los 21 días de lactación, la mitad de las conejas de cada grupo se sometió a un control de lactación trasladándolas a una jaula distinta de la que ocupaban con sus gazapos y todos los días se llevaba a la coneja a darlos de mamar. De este modo se pudo controlar el consumo de las madres y los gazapos por separado. Transcurridos 32 días de lactación se destetaron totalmente estas conejas y las que habían quedado con sus camadas.

Se determinaron: la fertilidad [(número de partos/número de conejas inseminadas) $\times 100$ ], la prolificidad (nacidos vivos, muertos, totales y destetados), el peso de los gazapos a nacimiento y destete, la ganancia media diaria (GMD) y la mortalidad en lactación.

Se controló el consumo de las conejas los 10 días antes de la IA, durante la última semana de gestación y las 3 primeras semanas de la lactación. Desde el día 21 al 32 de lactación se controló el consumo de las madres y los gazapos por separado en las que habían sido sometidas a un destete progresivo y en conjunto, al resto. Por último, se estimó la producción de leche de las conejas, semanalmente y durante toda la lactación, mediante controles basados en diferencias de peso de la madre, antes y después de dar de mamar a sus gazapos.

Para analizar estadísticamente los resultados se utilizó el software SAS (SAS Institute Inc., 2001). Para estudiar el efecto del pienso sobre la fertilidad se utilizó una Chi-cuadrado ( $\chi^2$ , proc catmod), mientras que para estudiar la prolificidad, el consumo, el peso a nacimiento y la mortalidad en lactación se utilizó un análisis de varianza de una vía (proc glm) y para la producción de leche semanal, un análisis de medidas repetidas (proc mixed). Las variables número y peso al destete, y la GMD se analizaron con el tipo de pienso consumido (control y AGPI) y el tipo de destete (normal y progresivo) como efectos principales y su interacción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados productivos. No hubo diferencias en cuanto a la fertilidad que fue alta en todos los grupos ya que son nulíparas y su receptividad sexual suele ser alta. La suplementación con AGPI n-3 aumentó los nacidos vivos y redujo los muertos con respecto a las conejas controles, confirmando resultados previos (Rebollar et al., 2014). Ni el peso de los gazapos al nacimiento ni la mortalidad durante la lactación, ni el número de destetados se vieron afectados por el tipo de pienso consumido pero las conejas AGPI destetaron conejos menos pesados y con menos GMD. Este descenso en el peso se podría atribuir a que los AGPI provocan una reducción de la deposición de grasa en la canal descrita en conejos (Kowalska y Bielański, 2009), a nivel abdominal descrita en pollos (Castro y Esteve-García, 2002) o en el hígado y grasa visceral, también descrita en humana (Rosqvist et al., 2014).

El control de lactación realizado el día 21 no afectó a ningún parámetro productivo y no se observaron interacciones significativas entre el tipo de pienso y el control de lactación. Como se puede observar en la Figura 1, desde la recría hasta la tercera semana de lactación, las hembras suplementadas con AGPI tendieron a comer menos, en relación con las del grupo control lo que, según estudios anteriores, puede deberse a una reducción de la palatabilidad por la inclusión de aceite de pescado en el pienso (Verschuren et al., 1990). La última semana de lactación en la que el consumo se debe a la suma del de las madres y los gazapos, las separadas tendieron a un menor consumo en el grupo AGPI pero sus gazapos consumieron lo mismo que los controles, por lo que al comparar el de las que no estuvieron separadas la diferencia no se detectó.

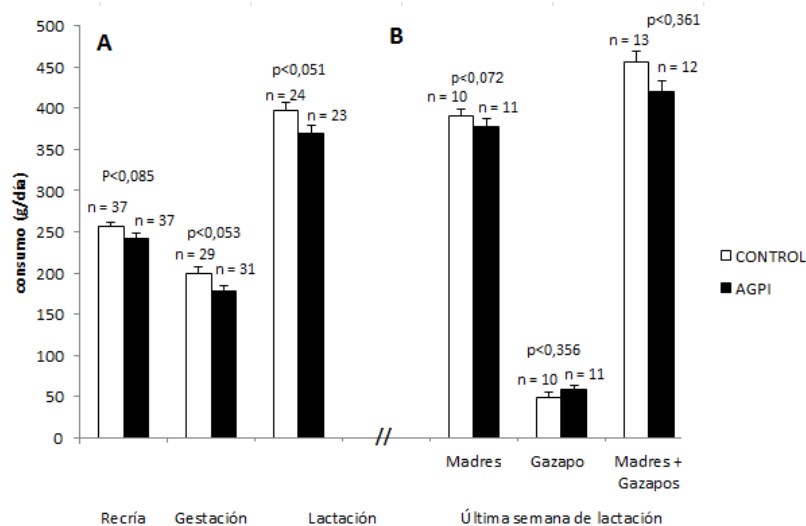


**Tabla 1. Parámetros productivos de conejas alimentadas con una dieta control (n=37) o con una dieta enriquecida con ácidos grasos n-3 (AGPI; n=37) tras someterse a un destete normal (n=25) o un control de lactación a 21 días (n=21)**

|                 | Pienso  |       | Destete |         | RSM   | P <sub>P</sub> | P>f            |                  |
|-----------------|---------|-------|---------|---------|-------|----------------|----------------|------------------|
|                 | Control | AGPI  | Normal  | 21 días |       |                | P <sub>D</sub> | P <sub>PxD</sub> |
| Fertilidad (%)  | 81,25   | 87,50 | -       | -       | 4,522 | n.s.           | -              | -                |
| Prolificidad    |         |       |         |         |       |                |                |                  |
| Vivos           | 10,44   | 10,78 | -       | -       | 0,108 | *              | -              | -                |
| Muertos         | 0,48    | 0,15  | -       | -       | 0,106 | *              | -              | -                |
| Totales         | 10,50   | 11,31 | -       | -       | 0,428 | n.s.           | -              | -                |
| Destetados      | 9,09    | 9,02  | 9,45    | 8,65    | 0,497 | n.s.           | n.s.           | n.s.             |
| Peso gazapo (g) |         |       |         |         |       |                |                |                  |
| Nacimiento      | 67,80   | 64,77 | -       | -       | 1,948 | n.s.           | -              | -                |
| Destete         | 412,5   | 377,5 | 384,6   | 405,4   | 13,54 | *              | n.s.           | n.s.             |
| GMD (g/día)     | 11,80   | 10,81 | 11,04   | 11,57   | 0,440 | *              | n.s.           | n.s.             |
| Mortalidad (%)  | 3,16    | 5,67  | -       | -       | 1,681 | n.s.           | -              | -                |

RSM: cuadrado medio del error. P<sub>P</sub>: significación del pienso. P<sub>D</sub>: significación del destete. P<sub>PxD</sub>: significación de la interacción. n.s.: no significativo, \*: p< 0,05. GMD: Ganancia Media Diaria.

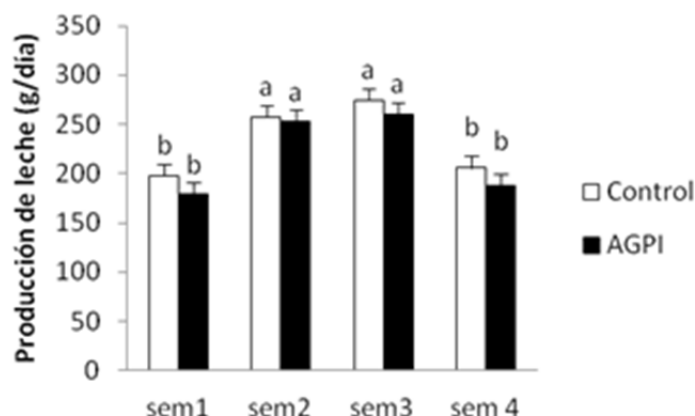
**Figura 1. (A) Consumo de conejas alimentadas con una dieta control (C) o con una dieta enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI) durante la recría, gestación y las 3 primeras semanas de lactación. (B) Consumo en la última semana de lactación de las conejas separadas y de sus gazapos, así como de las destetadas a 32 días.**



La producción de leche fue similar en ambos grupos (Figura 2). Hubo un claro aumento productivo durante la segunda y tercera semana de lactación, donde las conejas alcanzan el pico en la curva de lactación tal y como ya describieron Torres et al. (1979).



**Figura 2. Evolución de la producción de leche (g/día) de las conejas de los grupos Control (C) y PUFA (P) durante las 4 semanas de lactación**



### CONCLUSIONES

En conclusión, la inclusión en el pienso de un 6% de un suplemento concentrado en AGPI n-3 a partir de aceite refinado de salmón tuvo como resultado una tendencia a un menor consumo de las conejas en todas las fases productivas. Este menor consumo no tuvo repercusiones negativas sobre la producción de leche de las conejas a lo largo de toda la lactación, y parieron más nacidos vivos y menos muertos.

**AGRADECIMIENTOS** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913).

### BIBLIOGRAFÍA

- Castro, N., Esteve-García, E. 2002. Poultry Sc., 81: 512-518.
- Febrel, N., Rodríguez M., López-Tello J., Velasco B., Millán P., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Lorenzo P.L., Rebollar P.G. 2015. En: XVI Jornadas de Producción Animal, ITEA, 19-20 mayo 2015.
- Kowalska, D., Bielański P. 2009. Animal Science Papers and Reports 27: 139-148.
- McNitt J.I., Lukefahr S.D. 1990. Journal of Animal Science 68: 1505-1512.
- Rebollar P.G., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Millán P., Rey A.I., Rodríguez M., Formoso-Rafferty N., De la Riva S, Masdeu M., Lorenzo P.L, García-Rebollar P. 2014. Animal Reproduction Science, 146: 202-209.
- Rodríguez M., Valiente V., Formoso-Rafferty N., Masdeu M., García-García, R.M., Arias-Álvarez, M., Lorenzo, P.L., Rebollar, P.G. 2014. En: XXXIX Sympos. Cunicultura de ASESU. Tudela, España, pp. 99-102.
- Rosqvist F., Iggman D., Kullberg J., et al. 2014. Diabetes 63:2356-2368.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.
- Torres, A. Fraga, M.J., de Blas. 1979. Anales del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Serie Producción Animal 10:25-30.
- Verschuren P.M., Houts Muller U.M.T. y Zevenbergen J.L. 1990. Laboratory Animals 24, 164-171.



## ESTUDIO DE DIFERENTES COMPOSTS DE ORUJO COMO FUENTE DE FÓSFORO EN SUELOS CALIZOS

Fernández Rubín de Celis, Marta

Tutores: Cartagena Causapé, M<sup>a</sup> Carmen ; Requejo Mariscal, María Isabel

Departamento de Química y Análisis Agrícola. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.  
mrubincelis@gmail.com

### RESUMEN

El sector vinícola es uno de los sectores más importantes de la agricultura en España. Dicho sector produce un gran volumen de subproductos y residuos sólidos y líquidos. Por otro lado, el fósforo (P) es uno de los macronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. La mayor parte de los fertilizantes fosfatados se producen a partir de roca fosfórica, sin embargo, existe la certeza de que es un recurso no renovable y de que es escaso. Esta situación ha potenciado la reutilización del fósforo contenido en los residuos orgánicos. Es por ello, que este trabajo tiene como principal objetivo estudiar la influencia de diferentes tipos de residuos orgánicos de la industria vitivinícola en la dinámica del fósforo en suelos calizos. Para ello, se ha realizado un ensayo de incubación con la aplicación de cinco tipos de residuos de la industria vinícola en dos suelos calizos. En cada muestreo se realizaron los análisis de diferentes parámetros: pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico soluble, fósforo Olsen e índice de adsorción de fósforo. Podría decirse que, en general, los residuos orgánicos suponen una buena alternativa para el incremento del fósforo en los suelos calizos.

**Palabras clave:** compost de orujo, fósforo, suelos calizos

### INTRODUCCIÓN

Los principales residuos generados en la industria vitivinícola son los siguientes: raspón (12%), orujo de bodega (62%), lías (14%), aguas residuales (12%) (Ruggieri et al., 2009), orujo desalcoholizado y vinazas. Algunos de éstos pueden reutilizarse y aplicarse como enmienda orgánica a los suelos. En concreto, en este trabajo se plantea el uso de orujo desalcoholizado y raspón para la fabricación de composts. El compostaje de dichos residuos se ha llevado a cabo mediante un sistema abierto con condiciones controladas de humedad y temperatura. En la actualidad, no hay muchos estudios sobre la influencia del compostaje de los residuos en el comportamiento del fósforo en suelos calizos. Es por ello, que este trabajo está basado en el estudio de este macronutriente esencial para las plantas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo de incubación cinético con dos suelos calizos y cinco tipos de residuos (unos compostados y otros frescos), llevándose a cabo, en cada caso, cinco muestreos a lo largo del tiempo. Mediante este ensayo se quiso determinar la influencia de tres factores: el tipo de suelo, el tipo de residuo y el tiempo de incubación. El ensayo se realizó en condiciones controladas de humedad y temperatura.

Los dos suelos utilizados fueron de naturaleza caliza (Tabla 1) con diferente contenido de fósforo Olsen (suelo A: 22,1 mg/kg; suelo B: 60,3 mg/kg), así como diferentes índices de adsorción de fósforo.

**Tabla 1. Características de los suelos utilizados en el experimento.**

| Parámetro | Textura           | pH  | EC<br>(dS/m) | C                              |                           | C/N | P Olsen<br>(mg/kg) | Fe<br>(mg/kg) | PSI<br>(L/kg) | CaCO <sub>3</sub><br>(%) | Caliza<br>activa<br>(%) |
|-----------|-------------------|-----|--------------|--------------------------------|---------------------------|-----|--------------------|---------------|---------------|--------------------------|-------------------------|
|           |                   |     |              | orgánico<br>oxidable<br>(g/kg) | N<br>(Kjeldahl)<br>(g/kg) |     |                    |               |               |                          |                         |
| Suelo A   | Franco<br>arcillo | 8,4 | 0,1          | 13,1                           | 1                         | 13  | 22,1               | 25080         | 235,97        | 7,69                     | 1,42                    |
|           | arenosa           |     |              |                                |                           |     |                    |               |               |                          |                         |
| Suelo B   | Franco<br>arenosa | 8,5 | 0,2          | 9,5                            | 0,9                       | 10  | 60,3               | 11209         | 91,49         | 2,26                     | 0,47                    |
|           | arenosa           |     |              |                                |                           |     |                    |               |               |                          |                         |

Sesión P2



Los residuos utilizados se muestran en la Tabla 2. En cuanto a las características de los mismos, los materiales frescos presentaban una relación C/N y una relación C/P muy superior a la de los materiales compostados. Tras cada muestreo, se determinaron los siguientes parámetros: pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico soluble en agua, fósforo Olsen e índice de adsorción de fósforo.

**Tabla 2. Nomenclatura y descripción de los residuos empleados en el ensayo de incubación.**

| Nomenclatura | Descripción  |
|--------------|--|
| OD           | Orujo desalcoholizado.                               |
| OD+R         | Orujo desalcoholizado más raspón.                    |
| OD (COM)     | Orujo desalcoholizado compostado.                    |
| OD+R (COM)   | Orujo desalcoholizado más raspón compostado.         |
| OD+R (COM V) | Compost "viejo" de Orujo desalcoholizado más raspón. |

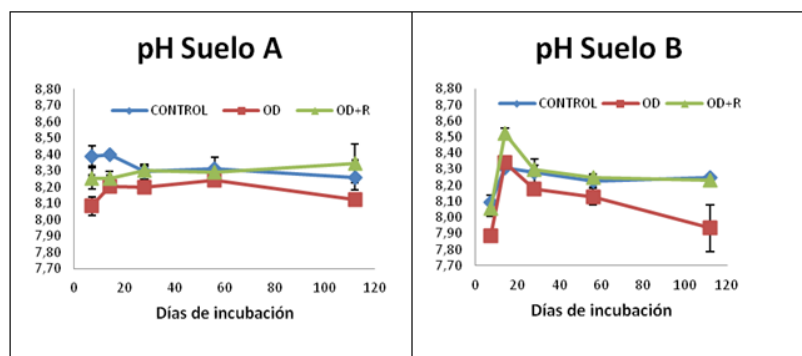
Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el test de ANOVA. En el caso de obtener diferencias significativas, se realizó el Test de Tukey para una probabilidad del 95%. Además, con el fin de obtener la máxima información de este experimento, se han determinado los efectos asociados a los tratamientos con residuos orgánicos, estableciendo el incremento ( $\Delta$ ) de cada propiedad analizada con respecto al suelo testigo en cada tiempo de incubación. Con estos datos últimos, se ha realizado un análisis estadístico ANOVA de tres factores de medidas repetidas que nos permite evaluar el efecto de las variables consideradas: tipo de residuo, tipo de suelo, tiempo y los efectos combinados de residuo-suelo, residuo-tiempo, suelo-tiempo y residuo-suelo-tiempo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evolución del pH del suelo en tratamientos con residuos no compostados:

Los suelos empleados en los experimentos se caracterizaron por presentar inicialmente, en el momento cero (sin la aplicación de residuos y sin incubación) un pH alcalino muy parecido (8,4 y 8,5 respectivamente). La aplicación de los residuos vitivinícolas sobre ambos suelos indujo en general a una ligera acidificación como se muestra en la Figura 1. Esto puede ser debido a los procesos de mineralización de la materia orgánica, así como a los procesos de nitrificación. A su vez, el tratamiento testigo (suelo sin enmendar) presenta unas tendencias parecidas a las de los residuos. Esto puede ser debido al carácter calizo de estos suelos, que les proporciona un efecto tampón que evita cambios bruscos en el pH con la adición de materiales orgánicos (Gallardo-Lara y Nogales, 1987).

**Figura 1. Evolución del pH en el suelo A y suelo B con la adición de residuos sin compostar**



Evolución de la conductividad eléctrica:





El valor de la conductividad eléctrica de los suelos enmendados aumenta significativamente con la adición de los residuos compostados en ambos tipos de suelos. De todos ellos, el compost viejo de orujo desalcoholizado más raspón (compost que ha sido almacenado durante más de un año en el laboratorio) es el que mayor efecto tiene en el incremento de la conductividad eléctrica (los valores más altos alcanzados fueron de 0,56 dS/m en el caso del suelo A y de 0,78 dS/m en el caso del suelo B), además provocó la salinización del suelo.

Este incremento puede ser debido a la mineralización de la materia orgánica, así como al contenido en sales de dichos residuos.

Evolución del carbono orgánico soluble en agua:

El efecto "priming" es conocido como la estimulación de la mineralización de la materia orgánica soluble en agua (Bingeman y col., 1953). La incorporación de materiales compostados favorece la conservación del carbono orgánico en el suelo, ya que se evita el efecto "priming". Sin embargo, la incorporación de materia orgánica fresca intensifica la mineralización de la materia orgánica soluble (Löhnis, 1926).

En general, en los dos suelos, el carbono orgánico presenta grandes incrementos con la aplicación de residuos orgánicos respecto al control.

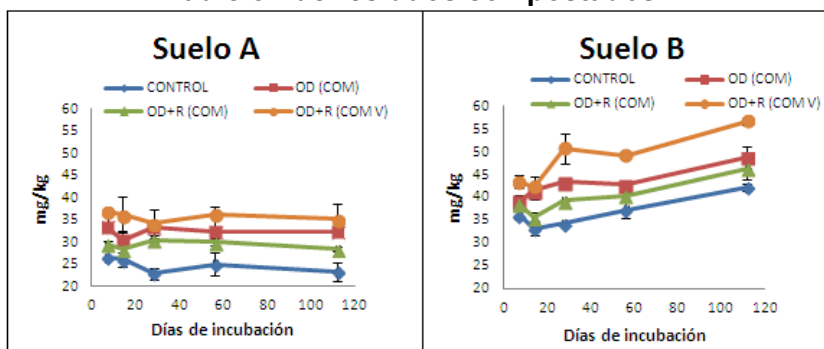
El incremento de carbono orgánico soluble en agua tiende a aumentar en los primeros días de incubación en todos los casos. Sin embargo, a partir de los 56 días, el incremento en la concentración de carbono orgánico soluble tiende a la estabilidad en los suelos enmendados con compost, pero disminuye con la aplicación de residuos no sometidos a compostaje. Aunque la aplicación de residuos frescos supone un mayor aporte de carbono orgánico soluble al suelo, estas formas de carbono han podido agotarse a lo largo del ensayo de incubación, debido a la degradación microbiana.

Evolución del fósforo Olsen o fósforo disponible en el suelo:

El fósforo Olsen es el fósforo disponible en el suelo, entendiéndose éste, como el fósforo presente en la solución del suelo y aquel que se encuentra de forma lábil.

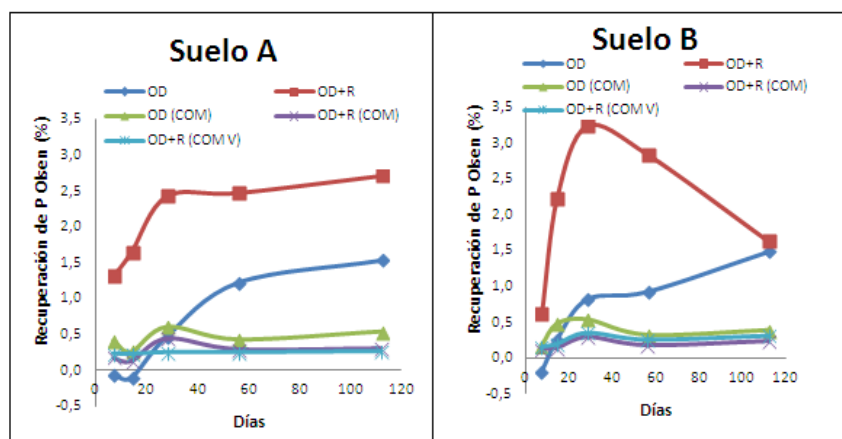
Como se muestra en la Figura 2 la aplicación de todos los residuos orgánicos estudiados incrementó el contenido de fósforo Olsen en el suelo a los 112 días del experimento respecto al suelo testigo (sin enmendar).

**Figura 2. Evolución del fósforo Olsen (P Olsen) en el suelo A y suelo B con la adición de residuos compostados.**



Además, se determinó el porcentaje de recuperación de P Olsen, observándose que los residuos compostados ofrecen valores menores de recuperación de P Olsen, con respecto a los residuos frescos en los dos suelos estudiados (Figura 3). Esto indica que, dado que nos encontramos ante dos suelos de naturaleza caliza, la aplicación de una mayor cantidad de P en el suelo contribuye a incrementar no sólo la cantidad de P disponible sino que en su mayoría ese P pasará a formar parte de las fracciones menos lábiles, no siendo extraído por el extractante Olsen.

**Figura 3. Recuperación de P Olsen en suelo A y suelo B con la adición de todos los residuos.**



Por último, se ha observado que existe una relación positiva para ambos suelos entre el carbono orgánico soluble y el fósforo Olsen de los mismos

Evolución del Índice de adsorción de fósforo:

El índice de adsorción de P (PSI) de un suelo es un indicador de la capacidad de adsorción de P del suelo. El efecto de la adición de los residuos orgánicos tras 112 días de incubación en el PSI del suelo depende fundamentalmente del tipo de suelo. La relación C:P de los residuos orgánicos que se añaden al suelo, así como su contenido en P son aparentemente importantes para la determinación de los efectos de los residuos orgánicos en la adsorción de P. Así, en el suelo B, hubo una influencia de ambos parámetros.

## CONCLUSIONES

La aplicación en suelos alcalinos de estos residuos indujo a una ligera acidificación en el suelo, debida posiblemente a la mineralización y a los procesos de nitrificación. La conductividad eléctrica aumentó notablemente, al igual que el carbono orgánico soluble en agua, observándose un efecto “priming” mayor en uno de los suelos ensayados, debido posiblemente a su menor contenido de arcilla. El P Olsen se incrementó en ambos tipos de suelos tras la aplicación de estos residuos. El aumento de P Olsen está directamente relacionado con el contenido de carbono orgánico soluble del suelo enmendado. La aplicación de este tipo de residuos, produce una modificación del PSI. Esta modificación depende directamente del valor inicial de este índice en el suelo sin enmendar.

## AGRADECIMIENTOS

A M<sup>a</sup> Carmen Cartagena y a María Requejo, mis dos tutoras, sin ellas esto no hubiera sido posible. A Juan Carlos Cuevas, por proporcionarnos los composts y los residuos sin compostar utilizados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bingeman, C.W.; Varner, J.E. y Martin, W.P. (1953). The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. *Soil Science Society America Proceedings* 29, 692-696
- Löhnis, F. (1926). Nitrogen availability of green manures. *Soil Science* 22, 253-290.
- Gallardo-Lara, F. y Nogales, R. (1987). Effect of the application of town refuse compost on the soil-plant system: a review. *Biol. Wastes*, 19: 35-61.
- Ruggieri et al. (2009) Recovery of organic wastes in the Spanish wine industry. Technical, economic and environmental analyses of the composting process. *Journal of Cleaner Production* 17 (9): 830-838.



## EL GRAFENO, PROPIEDADES Y APLICACIONES PARA BIOMEDICINA Y BIOTECNOLOGÍA

Daza García, Jesús; Millán Sáez, Almudena

Tutor: Arce Martínez, Augusto

Departamento de Química y Tecnología de Alimentos

j.daza@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Actualmente se investiga en el desarrollo de nuevos materiales para el avance de las nuevas tecnologías, la industria de la conservación de alimentos y su embalaje. El objetivo de este trabajo es dar a conocer uno de estos nuevos materiales, el grafeno, de reciente aparición, sus propiedades, exponiendo la causa estructural de estas y sobre todo nos centraremos en la importancia que tienen estas propiedades a la hora de aplicarlos a la biomedicina y la biotecnología.

**Palabras clave:** grafeno, propiedades, aplicaciones

### INTRODUCCION

El grafeno es un material de reciente descubrimiento (2010) constituido únicamente por átomos de carbono puro que forman una malla hexagonal. Esta estructura es la causa de las propiedades que tiene este material, entre las que destacan: su elevadísima dureza (100 veces superior a la del acero), su flexibilidad, su elasticidad, es muy ligero y presenta una alta conductividad térmica y eléctrica. Las propiedades del grafeno le hacen idóneo para su aplicación a muchos campos, hasta ahora se ha investigado su uso especialmente para las nuevas tecnologías, por ejemplo, su elevada conductividad eléctrica unida a que tiene un efecto Joule menor al del silicio (es decir, que se calienta menos al conducir los electrones) lo hacen ideal como componente de circuitos integrados. Sin embargo, más recientemente se ha descubierto que las propiedades del grafeno pueden ser aprovechadas para el ámbito de la biomedicina y la biotecnología, por lo que se están abriendo nuevas líneas de investigación entre las que destacan prótesis, recubrimiento de medicamentos o incluso como tratamiento contra el cáncer.

Por tanto los objetivos de este trabajo son:

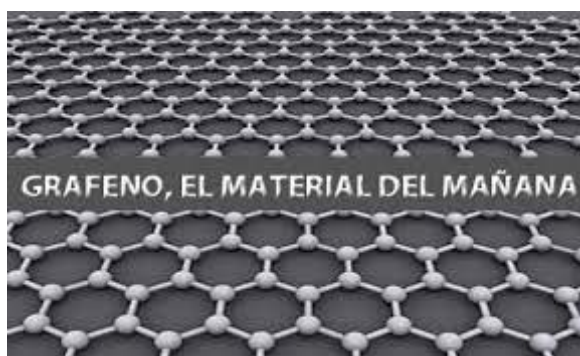
- 1) Describir de manera general la estructura del grafeno.
- 2) Exponer las propiedades del grafeno relacionándolas con sus usos.
- 3) Desarrollar las líneas de investigación concretas en el ámbito de la biomedicina o la biotecnología que emplean este material.

Estructura del grafeno:

El grafeno es una alotropía del carbono, está constituido únicamente por átomos de carbono puro que forman mallas hexagonales. A cada átomo de carbono se le unen otros tres por medio de un enlace covalente de tipo sigma generando enlaces híbridos de tipo  $sp^2$  (lo que explica los ángulos de enlace de  $120^\circ$  del grafeno). El electrón sobrante se aloja en un orbital atómico de tipo "p", perpendicular al plano de los híbridos. El solapamiento lateral de dichos orbitales da lugar a formación de orbitales de tipo  $\pi$ . Estas combinaciones propician un gigantesco orbital molecular deslocalizado entre todos los átomos de carbono que constituyen la capa de grafeno y que explica muchas de sus propiedades.



### Imagen 1. Estructura del grafeno



El grafeno también podría ser visto como un hidrocarburo aromático policíclico de anillos de seis átomos de carbono.

Propiedades del grafeno en relación con sus aplicaciones:

- El grafeno posee una elevada dureza, tiene mucha elasticidad es muy ligero y resistente, por lo cual podría emplearse para implantes o prótesis, además es transparente, lo que podría mejorar la estética.
- El grafeno debido a su gigantesco orbital deslocalizado tiene mucha facilidad para reaccionar químicamente con otras sustancias, lo cual le permite formar compuestos con diferentes propiedades, esto dota a este material de gran potencial en el desarrollo de fármacos, ya que puede unirse a impurezas y de esta manera cambiar el comportamiento de un fármaco, por ejemplo podría cambiar sus propiedades para hacerlo más soluble en agua.
- Tiene un efecto Joule muy pequeño, es decir que se calienta menos al conducir electrones, por tanto es más eficaz en la transmisión de electricidad, por lo que sería útil para la fabricación de dispositivos eléctricos que se inserten en el interior del cuerpo. Además es un semiconductor, por lo que se le podría estimular para que no condujera la corriente en determinadas circunstancias, aumentando así sus posibles aplicaciones.
- Es un material muy ligero y fino ya que se compone únicamente de una sola capa de átomos, esto permite que el grafeno pueda ser utilizado para recubrir determinadas estructuras del cuerpo humano, además puede ser utilizado como base para cultivos celulares.
- Está en fase de investigación el uso de una lámina de grafeno con poros de 1,8 nm para sustituir las membranas en el proceso de ósmosis inversa para la desalinización del agua. Según las investigaciones actuales se obtendrían eficiencias mucho mayores que con las membranas actuales, y se tendrían requerimientos menores de energía. En el estado actual, el inconveniente es el costo de las membranas de grafeno, pero se espera que en el futuro estos costos puedan reducirse.

El grafeno posee otras muchas propiedades, sin embargo estas son más importantes para aplicaciones de otros campos.

Aplicaciones del grafeno en biotecnología y biomedicina:

El grafeno es un material de reciente descubrimiento, por lo que tiene pocas aplicaciones reales, aunque existen muchas líneas de investigación, estas investigaciones se dirigieron en un principio a aparatos tecnológicos. Las investigaciones relacionadas con la biomedicina y la biotecnología son mucho más recientes.



A continuación se detallan algunas de las líneas más importantes de investigación con el grafeno en el ámbito de la biotecnología y la biomedicina.

### 1. *Recubrimiento de medicamentos*

Uno de los problemas más importantes a los que se enfrentan los investigadores que diseñan medicamentos es el de que éstos sean “compatibles” con el cuerpo humano, es decir que sean solubles en agua, que actúen a un pH determinado etc.

El grafeno al ser tan reactivo puede reaccionar con muchas sustancias que permiten cambiar sus propiedades y al mismo tiempo cambiar los del medicamento que recubre. Así Zhuang et al. (2008) consiguen que un medicamento que era muy eficaz pero que era insoluble en agua pueda solubilizarse y cumplir su cometido gracias al grafeno. Se sabe que muchos medicamentos potentes, a menudo aromáticos son insolubles en agua, esto ha obstaculizado su uso para el tratamiento de enfermedades. En este trabajo, han combinado óxido de grafeno nano (ONG), un material de grafito, con polietilenglicol ramificado (PEG) para obtener un conjugado biocompatible (ONG-PEG) que es estable en diversas soluciones biológicas. Los resultados mostraron que el grafeno es una nueva clase de material prometedora para aplicaciones biológicas incluyendo el tratamiento futuro del cáncer in vivo con diversos fármacos aromáticos, de baja solubilidad.

### 2. *Medicamento en sí mismo*

El grafeno tiene la propiedad de absorber muy bien las radiaciones infrarrojas, por tanto una de las líneas de investigación del grafeno es el tratamiento de algunos cánceres con luz infrarroja.

El proceso consiste en inyectar al paciente partículas de grafeno, modificadas químicamente para que se adhieran a las células cancerosas. Aprovechando la propiedad que tiene este material para absorber la luz infrarroja, las irradiaciones con las que se trata el tumor actuarían directamente sobre las células dañadas, sin afectar al resto del cuerpo. Esta es un área de investigación todavía incipiente, pero que mejoraría notablemente la eficiencia de los tratamientos radiológicos.

Estas líneas de investigación son muy importantes porque uno de los aspectos que más ocupa el interés de los investigadores es conseguir que los tratamientos del cáncer sean menos lesivos para los enfermos, mediante un sistema que permita eliminar células dañadas de forma selectiva, sin afectar a las células sanas. En esta línea de investigación Sławomir et al. (2015), exponen cómo los tumores se eliminan más fácilmente al ser marcados con grafeno, además también estudian la efectividad de los distintos compuestos de grafeno, así como la toxicidad de éstos en el organismo. El grafeno y sus homólogos relacionados se consideran el futuro de los nanomateriales avanzados debido a sus propiedades ejemplares. Sin embargo, la información acerca de su toxicidad y la biocompatibilidad es limitada. El grafeno no solo tiene aplicaciones relacionadas con la salud, sino que también puede usarse en aplicaciones relacionadas con la ecología y el cuidado del medio ambiente.

Entre las nuevas terapias que surgen, la hipertermia de tumores ha sido investigada como sustituta de la cirugía ya que puede inducir daño letal a componentes celulares a temperaturas superiores a 40°C. El grafeno representa una nueva nanopartícula prometedora en ese área. Es un alótropo del carbono que debido a sus propiedades de absorción óptica en la zona del infrarrojo cercano (NIR) presenta un gran interés en el ámbito de la biomedicina ya que podría permitir ser utilizado como agente de hipertermia en terapia fototérmica contra el cáncer. Esta se basa en la irradiación de un material (internalizado previamente por las células tumorales), con una luz de longitud de onda específica para ser absorbida por él, y que libera energía vibracional en forma de calor (Morilla et al. 2012)



### 3. *Eliminación de un contaminante*

El grafeno gracias a su gran capacidad para unirse a otros compuestos está siendo testado para eliminar contaminantes del medio acuático, sin embargo el problema que existe al verter grafeno a un ecosistema acuático es que los animales y las plantas pueden verse contaminados, y esta aplicación puede llegar a ser contraproducente.

La aplicación de grafeno en un ecosistema acuático ha sido testada en una investigación por investigadores chinos obteniendo las siguientes conclusiones:

Los nanomateriales de la familia del grafeno (GFNs) incluyendo grafeno prístino, óxido de grafeno reducido (RGO) y óxido de grafeno (GO) ofrecen un gran potencial de aplicación, lo que lleva a la posibilidad de su liberación en el medio acuático. Tras la exposición, el grafeno / RGO y GO exhiben diferentes propiedades de adsorción hacia adsorbatos (contaminantes) ambientales, por lo tanto se discuten las interacciones moleculares en la interfaz GFN-agua. Tras la exposición en ambientes acuáticos, los GFNs tienen impactos adversos en los organismos acuáticos (por ejemplo, bacterias, algas, plantas, invertebrados y peces). Los mecanismos de toxicidad de los GFNs a nivel celular producen efectos tóxicos y dañan las membranas. También se revisa la degradación de los GFNs tras la exposición a la radiación ultravioleta (UV) y / o la biota. En vista de las preguntas sin respuesta, la investigación futura debería incluir la caracterización completa de los GFNs, nuevos enfoques para explicar la agregación de los GFNs, comportamientos ambientales de GO metaestable, y la relación entre la dispersión de los GFNs y las propiedades de adsorción relacionados (Ding, et al. 2015).

## CONCLUSIONES

Se puede concluir, a la vista de la revisión realizada, que las excelentes propiedades grafeno están estrechamente relacionadas con su estructura la cual le confiere unas propiedades físicas que hacen de este compuesto un material con infinidad de aplicaciones en el campo de las nuevas tecnologías. Algunas de estas propiedades permiten su aplicación en los interesantes campos de la biotecnología, biomedicina y también el tratamiento de los nuevos contaminantes emergentes presentes en las aguas residuales como lo demuestran las referencias estudiadas.

## AGRADECIMIENTOS

Al profesor Augusto Arce Martínez del departamento de Química y Tecnología de Alimentos por su colaboración y apoyo durante la realización del trabajo

## BIBLIOGRAFÍA

- Ding J.; Li, B.J.; Liu Y.S.; Yan X.S.; Zeng, S.; Zhang X.D.; Hou L.F.; Cai Q.; Zhang J.M. 2015. Fabrication of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@reduced graphene oxide composite via novel colloid electrostatic self-assembly process for removal of contaminants from water. *Journal of Materials Chemistry A*, Vol 3 – 2, 832-839.
- Morilla E., Vila M., Baeza A. 2012. Grafeno funcionalizado para terapia fototérmica antitumoral. *Serie Congresos Alumnos*. 4 (10): 146, ISSN: 1989-5003.
- Jaworski S., Sawosz E., Kutwin M., Wierzbicki M., Hinzmann M., Grodzik M., Winnicka A., Lipińska L., Włodyga K., and Chwalibog A. 2015 In vitro and in vivo effects of graphene oxide and reduced graphene oxide on glioblastoma *International Journal of Nanomedicine* Volume:10 Pages 1585—1596.
- Zhuang L., Joshua T. Robinson, Xiaoming S., Hongjie D. 2008. PEG nano-graphene oxide for delivery of water insoluble cancer drugs. *J. Am. Chem. Soc.*, 130 (33), 10876–10877.



## AGROECOLOGÍA: LA NUEVA “REVOLUCIÓN AGRARIA”

Rocha de Moraes Rego, Carlos Augusto<sup>1</sup>; Penha Costa, Bruna<sup>2</sup>  
Tutor: Sanz-Cobefia, Alberto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Becado del programa Ciencia sin Fronteras (CNPQ/BRASIL). Grado en Ingeniería Agronómica. Universidad Estadual do Maranhão.*

<sup>2</sup>*Grado en Ingeniería Agronómica. Universidad Estadual do Maranhão.*

<sup>3</sup>*Departamento de Química y Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.*

*cassielcarlos@hotmail.com, a.sanz@upm.es, bruna.penhacosta@hotmail.com*

### RESUMEN

Las iniciativas agroecológicas pretenden servir de instrumento de cambio que lleve a transformar los sistemas de producción agropecuaria imperantes. Hoy, los sistemas agroecológicos aparecen como una alternativa frente a la agricultura tradicional mediante la promoción de una producción agropecuaria local que permita el abastecimiento con alimentos de calidad a las familias de productores en el ámbito rural, al tiempo que favorezca el establecimiento de relaciones socioeconómicas estables y éticamente justas entre las poblaciones. El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica sobre los sistemas agroecológicos actuales como vía de innovación en el uso de recursos locales y energías alternativas, perfeccionando los agrosistemas convencionales e impulsando otros con una mínima dependencia de agroquímicos e insumos de energía.

**Palabras clave:** *Agroecosistemas, Manejo Sustentables, Prácticas Alternativas.*

### INTRODUCCION

Con la modernización de la agricultura, el aumento de la productividad agrícola se ha tornado el centro de la atención, por parte de los agricultores, como parámetro para evaluar su eficiencia, sin tener en cuenta impactos negativos hacia el pequeño agricultor y sobre el medio ambiente, ambos elementos fundamentales del mismo proceso de desarrollo, llevando con ello a la aparición de diversos problemas sociales y ambientales.

La agroecología puede ser una alternativa a los sistemas de producción agrícola convencionales que pese a haber sostenidos el crecimiento poblacional de las últimas décadas, ha tenido asociados efectos negativos tanto medioambientales (contaminación, consumo de recursos, etc.) como sociales (exclusión de pequeños campesinos, desperdicios de alimentos, padecimiento de malnutrición en cientos de millones de personas). Los sistemas agroecológicos podrían, mediante la promoción prácticas agronómicas tradicionales revisadas, ser un motor de cambio hacia un sistema agroalimentario más justo y menos lesivo hacia el medio. Un sistema en el que se promuevan vías de producción locales que permitan el abastecimiento con alimentos de calidad a las familias de productores en el ámbito rural, al mismo tiempo que favorezca el establecimiento de relaciones socioeconómicas estables y éticamente justas entre las poblaciones.

Actualmente existen sistemas de producción alternativos enclavados en diferentes condiciones ambientales, y que presentan resultados satisfactorios tanto desde el punto de vista ecológico y agronómico como socioeconómico (Carmo et al., 1988; Carmo & Magalhães, 1999; Darolt, 1999; Ndiaye et al., 1999). A demás de eso, un nuevo mercado específico de esos productos ha comenzado a expandirse en los últimos años, incrementando la plusvalía del producto final (Lampkin, 1995; Almeida et al., 2001).

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica sobre los sistemas agroecológicos actuales como vía de innovación en el uso de recursos locales y energías



alternativas, perfeccionando los agrosistemas convencionales e impulsando otros con una mínima dependencia de agroquímicos e insumos de energía.

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La agroecología es tanto una ciencia como un conjunto de prácticas. Como ciencia se basa en la aplicación de los postulados de la ecología al estudio, diseño y manejo de agroecosistemas sustentables (Altieri, 2002). La idea principal de la agroecología es ir más allá de las prácticas agrícolas alternativas y desarrollar agroecosistemas con una mínima dependencia de agroquímicos e insumos de energía.

Los principios básicos de la agroecología incluyen: el reciclaje de nutrientes y energía, la sustitución de insumos externos, el mejoramiento de la materia orgánica y la actividad biológica del suelo, la diversificación de las especies de plantas y los recursos genéticos de los agroecosistemas en tiempo y espacio, la integración de los cultivos con la ganadería, y la optimización de las interacciones y la productividad del sistema agrícola en su totalidad, en lugar de los rendimientos aislados de las distintas especies (Gliessman, 1998).

Los sistemas agroecológicos están profundamente arraigados en la racionalidad ecológica de la agricultura tradicional (Altieri, 2004; Toledo, 1990). Donde señalan que el desarrollo de los recursos humanos es la piedra angular de cualquier estrategia dirigida a aumentar las opciones de la población rural y, especialmente, de los campesinos con escasos recursos y que han contribuido al fortalecimiento de estas prácticas a lo largo de los años (Holt-Gimenez, 2006). A pesar de su importancia ecológica y cultural y de su riqueza, este conocimiento tradicional acumulado durante generaciones a través de la experiencia directa en el manejo de recursos naturales, ha sido olvidado y muy pocos esfuerzos a nivel institucional se están realizando para protegerlo y conservar estos antiguos sistemas de cultivo (Koohafkan y Altieri, 2010).

A pesar de ello, estos sistemas agrícolas agroecológicos no sólo alimentan gran parte de la población mundial en diferentes áreas del planeta, particularmente en los países en desarrollo, sino que también ofertan muchas de las posibles respuestas a los retos de la producción y la conservación de los recursos naturales a los que se enfrenta el medio rural en particular y toda la sociedad en general (Koohafkan y Altieri, 2010). Comprender las características agroecológicas de los agroecosistemas tradicionales, puede ser la base para el diseño de sistemas agrícolas resilientes ante los cambios devenidos del Cambio Climático (Altieri y Koohafkan, 2008).

A la escala de paisaje, la diversificación se produce mediante la integración de múltiples sistemas productivos en los que coexisten ganado, campos en barbecho y sistemas agroforestales, creando un mosaico diverso de diferentes estrategias productivas inmersas en una matriz de bosques primarios o secundarios (Perfecto et al., 2009). Existen muchos ejemplos de sistemas agrícolas exitosos, caracterizados por su gran diversidad de cultivos y de animales domesticados, por el mantenimiento y mejora de las condiciones edáficas y por su gestión del agua y de la biodiversidad, basados todo ellos en conocimientos tradicionales (Toledo y Barrera-Bassols, 2008).

Estudios centrados en sistemas agroecológicos han evaluado los huertos caseros tropicales como agroecosistemas sostenibles (Gliessman 1990b, y Gliessman *et al.* 1981). Además, investigaciones recientes apoyan las propuestas anteriores que avalan la importancia de los ecosistemas y agroecosistemas locales como bases para el desarrollo de una agricultura más sostenible (Gliessman, 2000). Así mismo, como la evidencia empírica obtenida durante las cuatro últimas décadas desde la agroecología ha demostrado, el conocimiento acumulado sobre los agroecosistemas en el pasado puede





aportar soluciones específicas en cada lugar para resolver los problemas sociales y medioambientales (Altieri, 1985; Rist y San Martín, 1993; Gliessman, 1990a; González y Guzmán, 2000; Delgado y Rico, 2004).

La generación de redes de intercambio y estrategias de acción productivas, de comercialización y creación de mercados alternativos e infraestructuras organizativas es la práctica más habitual dentro de una dinámica vinculada a movimientos sociales rurales (Sevilla Guzmán y Martínez Alier, 2006).

## CONCLUSIONES

Los sistemas productivos basados en los principios agroecológicos tienen el potencial de alimentar el mundo, al tiempo que preservan los recursos naturales y hacen a las comunidades más resilientes a los cambios devenidos del Cambio Climático.

Se trataría de rescatar y fomentar conocimientos milenarios que sociedades diversas han practicado en numerosos lugares del Planeta. Técnicas de producción respetuosas con el medio y que pueden proveer de alimentos suficientes para dar respuesta a las necesidades de las poblaciones, al menos, a nivel local. La respuesta a problemas a mayor escala ha de pasar por un replanteamiento del sistema agroalimentario imperante en su conjunto. Un sistema en el que, por ejemplo se desperdicia el 30% de los alimentos y casi mil millones de personas, la mayoría agricultores, padecen problemas de salud asociados con la escasez de alimentos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq/BRASIL), por la beca de grado, en el exterior, mediante el Programa Ciencia Sin Fronteras.

## BIBLIOGRAFÍA

- Almeida, S.G. de; Petersen, P.; Cordeiro, A. 2001 Crise socioambiental e conversão ecológica da agricultura brasileira. Rio de Janeiro: AS-PTA, 122 p.
- Altieri, M.A. 1985. Agroecología. Bases científicas de la agricultura alternativa (Valparaíso: cetel, 1985).
- Altieri, M.A. 2002. Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 93, 1– 24.
- Altieri, M.A. 2004. Linking ecologists and traditional farmers in the search for sustainable agriculture. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2, 35–42.
- Altieri, M.A. and P. Koohafkan. 2008. Enduring farms: climate change, smallholders and traditional farming communities. *Environment and Development Series 6*. Malaysia: Third World Network.
- Carmo, M.S.; Comitre, V.; Dulle, R.D. 1988. Balanço energético de sistemas de produção na agricultura alternativa. *Agricultura em São Paulo*, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 87-97.
- Carmo, M.S. do; Magalhães, M. M. 1999. Agricultura sustentável: Avaliação da eficiência técnica e econômica de atividades agropecuárias selecionadas no sistema não convencional de produção. *Informações Econômicas*, São Paulo, v. 29, n. 7, p. 7-98.
- Darolt, M.R. 1999. Agricultura orgânica: A região metropolitana de Curitiba em destaque. *Agricultura Biodinâmica*, Botucatu, v. 82, p. 42-48.
- Delgado, F.; Rico R. 2004. "El saber local y la agroecología en los ecosistemas de montañas de Bolivia: Un diálogo para la conservación de la diversidad cultural y biológica en el sistema universitario boliviano", en *Análisis de las políticas neoliberales y sus implicancias en la agricultura campesina* (eds. F. Delgado, E. Serrano, M.A. García) pp. 81-92.
- Gliessman, S.R.; Gardcia, E.R; Amadir, A, M. 1981 . The ecological basis for the application of traditional agricultural technology in the management of tropical agro-ecosystems. *Agro-Ecosystems* 7:173-185.
- Gliessman, S.R, (ed.). 1990a. "Understanding the basis of Sustainability for Agriculture in the Tropics", en Clive A. Edwards et al., *Sustainable Agricultural Systems* (Ankley, Iowa: Soil and Water Conservation Society).
- Gliessman, S.R. ed. 1990b. *Agroecology: researching the ecological basis for sustainable agriculture*. 78. New York, Springer-Verlag.
- Gliessman, S.R. 1990c. Integrating trees into agriculture: the home garden agroecosystem as an example of agroforestry in the tropics. In Gliessman, S.R. ed. *Agroecology: researching the ecological basis for sustainable agriculture*. New York, Springer-Verlag.
- Gliessman, S.R. 1998. *Agroecology: ecological process in sustainable agriculture*. Ann Arbor, MI: Ann Arbor Press.



- Gliessman, S.R. ed. 2000. Agroecosystem sustainability: developing practical strategies. Boca Raton FL, CRC Press.
- González, M. M.; Guzmán, E. S. 2000 "Perspectivas socioambientales de la historia del movimiento jornalero andaluz", en Manuel González de Molina (ed.), La historia andaluza a debate, I. Campesinos y jornaleros (Barcelona: Antorpos).
- Holt-Gimenez, E. 2006. Campesino a Campesino: voices from Latin America's farmer to farmer movement for sustainable agriculture. Oakland, CA: Food First Books.
- Koochafkan, P.; Altieri M.A.. 2010. Globally important agricultural heritage systems: a legacy for the future. Rome: UN-FAO.
- Lampkin, N. 1995. Agricultura biológica en Europa in situación de la Agricultura Biológica - El Setor en España y en Europa. Boletín de la Asociación Vida Sana para el Fomento de la Cultura y el Desarrollo Biológicos, Barcelona, p. 6-7.
- Ndiaye, A.; Baêta, L. M.; Assis, R. L. de; Feiden, A. 1999. Análise da viabilidade econômica de produção de olerícolas em sistemas agroecológicos de produção. Agricultura Biodinâmica, Botucatu, v. 82, p. 33-37.
- Perfecto, I. J. Vandermeer y Wright A.. 2009. Nature's matrix: linking agriculture, conservation and food sovereignty. London: Earthscan.
- Rist, S., San Martín, J. 1993 Agroecología y saber campesino en la conservación de suelos (La Paz: Hisbol).
- Sevilla guzmán, E. y Martínez Alier J. 2006 "Rural social Movements and Agroecology. En P. Cloke, Terry Marsden and P. Mooney (eds). The International Handbook on Rural Studies. (Edward Elgar. Cheltenham) pp. 472-483.
- Toledo, V.M. 1990. The ecological rationality of peasant production. In: M. Altieri and S. Hecht, eds. Agroecology and Small Farmer Development. CRC Press, pp. 51-58.
- Toledo, V.M. y Barrera-Bassols N. 2008. La Memoria Biocultural: la importancia ecológica de las sabidurías tradicionales. Barcelona: ICARIA Editorial.



## TRANSFORMACION GENETICA DE PATATA (*SOLANUM TUBEROSUM* L. CV DESIREE) MEDIADA POR *AGROBACTERIUM*

Requena, Elena; Carrillo, Laura ; González, Mar

Tutores: Vicente-Carbajosa, Jesús; Medina Alcázar, Joaquín

Centro de Biotecnología y Genómica de plantas (UPM-INIA). Campus de Montegancedo, Autovía M40, km 38, 28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid)  
e.requena@alumnos.upm.es

### RESUMEN

La transformación genética consiste en la integración de genes específicos de interés al interior del genoma vegetal. Existen diferentes métodos de modificación genética, entre los que se encuentra la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, bacteria patógena causante de la enfermedad Agalla de la corona, que es capaz de penetrar en la planta a través de heridas y transferir el fragmento de ADN a las células vegetales.

En este trabajo se ha puesto a punto un método para la transformación y regeneración de plantas transgénicas de patata mediante el empleo de cultivo *in vitro* y marcadores para permitir la selección de transformantes.

Este método supone una excelente herramienta para la búsqueda de genes que permitan la mejora de cultivos en términos de aumento de producción y calidad de las cosechas, mediante una mayor resistencia a plagas y enfermedades y una mayor tolerancia a determinados estreses abióticos.

**Palabras clave:** Transformación genética, *Agrobacterium tumefaciens*, *Solanum tuberosum*.

### INTRODUCCION

La modificación genética vegetal es una tecnología utilizada para la mejora de plantas que consiste en modificar genes de una especie o introducir genes de otras para obtener características deseables como resistencia a plagas, tolerancia a herbicidas o a condiciones ambientales adversas ([www.europabio.org](http://www.europabio.org)). Entre los métodos de transformación genética se encuentra el método mediado por *Agrobacterium tumefaciens*, bacteria patógena de plantas que contienen un plásmido T-DNA. Este plásmido se introduce en el genoma de las células vegetales integrando su material genético y “secuestrando” la maquinaria de la célula (Anami D. *et al.*, 2013). Mediante ingeniería genética podemos eliminar los genes específicos para el desarrollo del tumor presentes en el plásmido T-DNA, e introducir aquellos que nos interesen incluyendo genes específicos que facilitan la selección de transformantes. De esta manera una vez producida la infección por *A. tumefaciens*, las células vegetales que han sido exitosamente transformadas, contienen aquellos genes de interés y los genes que las capacitan para crecer en medio selectivo. Los explantos se mantendrán en condiciones de esterilidad, con temperatura y humedad controladas y además, se inducirá un programa de organogénesis para la diferenciación de tallos y raíces, que llevarán de nuevo a la generación de la planta completa.

La patata (*Solanum tuberosum* L.) es una especie herbácea, perteneciente a la familia de las Solanáceas, originaria de Sudamérica y cultivada por todo el mundo por sus tubérculos comestibles. Es uno de los cultivos de mayor importancia agronómica, por su valor nutricional (Lovat C. *et al.*, 2015), su utilización en la producción de bebidas alcohólicas y otros usos industriales como producción de papel, material de embalaje, cola de pegar, detergentes y cosméticos. La producción mundial de patata es de 325 millones de toneladas con una superficie cultivada de 19 millones de hectáreas. Europa y Asia son los mayores



productores, con una producción de 130 y 137 millones de toneladas respectivamente (FAO, 2007).

La patata es una importante planta modelo, de la que se conoce la secuencia de su genoma (Xu X. *et al.*, 2011) y que ofrece respuesta a determinadas preguntas desde el punto de vista agrícola que otras plantas modelo no cultivadas como *Arabidopsis thaliana* L. no pueden responder. Además, la patata presenta varios aspectos biológicos que la hacen ser un modelo atractivo para su estudio; por ejemplo, es un poliploide ideal, ya que es el resultado de la duplicación de un mismo genoma por lo que es menos complejo que otras especies de interés agronómico como el trigo.

## MATERIAL Y METODOS

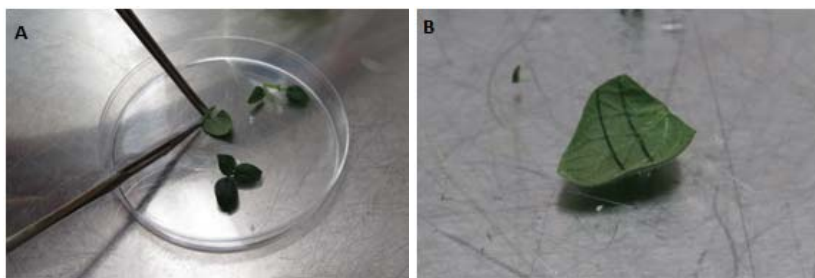
### Material vegetal

Se emplean plantas de patata (*Solanum tuberosum* L.) cv. Desiree, crecidas en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con 2% de sacarosa, 0,5g/L (p/v) de MES y 5,5 g/L (p/v) de agar de plantas. Las plantas se mantienen en cámaras de crecimiento con luz de intensidad  $120 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , un fotoperiodo de 16/8h de luz/oscuridad, con una temperatura media de 22°C diurnos y 18°C nocturnos.

### Preparación de los explantos

Tras 4 semanas en cultivo *in vitro*, se preparan los explantos, procedentes de hojas de la planta. Para preparar los explantos se descarta el peciolo y aproximadamente un tercio de la hoja adyacente al peciolo y se realizan dos o tres heridas superficiales en el envés de la hoja. Estos explantos, de aproximadamente  $1 \text{ cm}^2$  de superficie, estarían listos para el co-cultivo con *Agrobacterium* (Figura 1).

**Figura 1. Preparación de los explantos a partir de hojas de patata.** (A) Corte de hoja para la preparación de los explantos. (B) Heridas superficiales en el envés de la hoja.



### Preparación del cultivo de *A. tumefaciens*

Se utiliza un aislado del género *Agrobacterium*, cepa LBA4404, transformado previamente con un plásmido binario que porta los genes de interés. Para la puesta a punto del método se utilizó el gen que codifica la enzima FITOENO DESATURASA (*PHYTOENE DESATURASE*, *PDS*) ya que el silenciamiento de este gen resulta en un fenotipo albino y enano claramente identificable a simple vista (Qin G. *et al.*, 2007).

A partir de una colonia de *A. tumefaciens* se prepara un pre-inóculo con 10 mL de LB (Bertani *et al.*, 1951) suplementado con los agentes de selección y se mantiene dos días a 28°C y en agitación continua a 200 r.p.m. Tomando aproximadamente 200  $\mu\text{L}$  del pre-inóculo se prepara un cultivo con 10 mL de LB suplementado con los agentes de selección y se incuba durante una noche a 28°C y 200 r.p.m.

Cuando el cultivo de *A. tumefaciens* alcanza una Densidad Óptica a 600nm de entre 0,4-0,6 se toman 2 mL y se centrifugan a 4000 r.p.m durante 10 minutos.



Posteriormente, se decanta el sobrenadante y el precipitado se resuspende en medio MS líquido.

### Co-cultivo de *A. tumefaciens* y explantos de plantas

Los explantos preparados previamente para la transformación se colocan en placas de Petri (90 mm de diámetro), con 20 mL de medio MS líquido al que se añaden 160  $\mu$ L del cultivo de *A. tumefaciens*. Todo ello se incuba durante dos días en oscuridad y agitación a 50 r.p.m en una cámara de cultivo a 22°C/18°C (día/noche) y un fotoperiodo de 16/8h (luz/oscuridad).

### Regeneración de plantas

Una vez que han pasado los dos días de co-cultivo con *A. tumefaciens*, se toman los explantos cuidadosamente, se secan con papel de filtro estéril y se colocan en medio de inducción de callos (CIM, Tabla 1), (Figura 2), durante siete días 20°C/18°C (día/noche). Posteriormente, se transfieren a un medio de inducción de brotes (SIM, Tabla 1). Los explantos son regularmente transferidos a medio fresco, con intervalos de entre siete y diez días hasta que aparezcan brotes.

Los brotes individuales de entre 15-20 mm de longitud, son cortados y transferidos a medio de inducción de raíces (RIM, Tabla 1). Las plántulas con buen desarrollo radicular pueden ser multiplicadas *in vitro* a partir de meristemos o ser transferidas a tierra.

**Figura 2. Explantos de hojas de patata para la producción de callos.** (A) Explantos en medio de inducción de callos (CIM). (B) Formación de un callo a partir de células transformadas. (C) Detalle de la formación de callos para la generación de una planta modificada genéticamente.

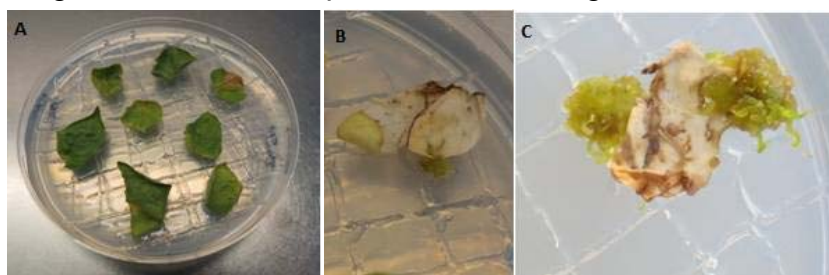


Tabla 1.  
la

Detalle de

**composición de los medios de cultivo de los explantos**

|  | CIM | SIM  | RIM |
|--|-----|------|-----|
| MS (g/L)                                 | 4,4 | 4,4  | 4,4 |
| Glucosa (g/L)                            | 16  | 16   | 16  |
| MES (g/L)                                | 0,5 | 0,5  | 0,5 |
| Benciladenina (BAP) (mg)                 | 0,1 | -    | -   |
| Acido naftalenacético (NAA) (mg)         | 5   | 0,02 | -   |
| Acido giberélico (GA <sub>3</sub> ) (mg) | -   | 0,02 | -   |
| Zeatina ribósido (mg)                    | -   | 2    | -   |
| Agar (g)                                 | 5,5 | 5,5  | 5,5 |
| Cefotaxima(mg)                           | 250 | 250  | 250 |

## RESULTADOS Y DISCUSION

Partiendo de 60 explantos para transformar patata con la construcción PDS-RNAi, se obtuvieron 30 callos en los que se podía identificar en mayor o menor medida el fenotipo albino debido a los distintos niveles de silenciamiento del gen que codifica la enzima FITOENO DESATURASA de patata. A partir de estos callos se obtuvieron brotes en 10 de ellos (Figura 3), lo que indica una eficiencia de algo más del 15%.



Los carotenoides juegan un papel importante en numerosos procesos de plantas y la enzima FITOENO DESATURASA es una de las más importantes en la ruta de biosíntesis de carotenoides. El fenotipo albino y enano de los brotes obtenidos confirma la interrupción funcional del gen PDS lo que supone un claro control positivo de la puesta a punto del método de transformación genética de patata.

**Figura 3. Generación de brotes albinos a partir de callos transformados con la construcción que expresa el gen PDS.**



### CONCLUSIONES

La generación de plantas transgénicas es una herramienta muy útil para el estudio de genes de interés, como por ejemplo genes sobre-expresados, estudios de delecciones o integración de genes foráneos en la planta destino. Además también es muy útil para la mejora de cultivos desde el punto de vista agronómico, ya que permite la generación de plantas o cultivos resistentes a estreses abióticos como pueden ser la sequía o la salinidad entre otros y a estreses bióticos como plagas y enfermedades producidas por múltiples organismos.

### BIBLIOGRAFIA

- Anami, S., Njuguna, E., Coussens, G., Aesaert, S. and Van Lijsebettens, M. (2013). *Int. J. Dev. Biol.* 57: 483-494.
- Bertani, G. (1951). *J. Bact.*, 62: 293-300.
- EuropaBio disponible en [www.europabio.org](http://www.europabio.org) con acceso Marzo de 2015.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2007 (<http://www.fao.org/potato-2008/es/mundo/>).
- Lovat, C., Nassar, AM., Jubow, S., Li, XQ. Doneelly, DJ. (2015). *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2015 Feb 12:0. [Epub ahead of print].
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). *Physiol. Plant.* 15:473-97.
- Qin, G., Gu, H., Ma, L., Peng, Y., Deng, XW., Chen, Z., Qu, LJ. (2007) *Cell Res.* 17: 471-482.
- Xu, X., Pan, S., Cheng, S., Zhang, B., Mu, D., Ni, P., Zhang, G., Yang, S., Li, R., Wang, J., Orjeda, G., Guzman, F., Torres, M., Lozano, R., Ponce, O., Martinez, D., De la Cruz, G., Chakrabarti, SK., Patil, VU., Skryabin, KG., Kuznetsov, BB., Ravin, NV., Kolganova, TV., Beletsky, AV., Mardanov, AV., Di, Genova, A., Bolser, DM., Martin, DM., Li, G., Yang, Y., Kuang, H., Hu, Q., Xiong, X., Bishop, GJ., Sagredo, B., Mejía, N., Zagorski, W., Gromadka, R., Gawor, J., Szczesny, P., Huang, S., Zhang, Z., Liang, C., He, J., Li, Y., He, Y., Xu, J., Zhang, Y., Xie, B., Du, Y., Qu, D., Bonierbale, M., Ghislain, M., Herrera, Mdel, R., Giuliano, G., Pietrella, M., Perrotta, G., Facella, P., O'Brien, K., Feingold, SE., Barreiro, LE., Massa, GA., Diambra, L., Whitty, BR., Vaillancourt, B., Lin, H., Massa, AN., Geoffroy, M., Lundback, S., DellaPenna, D., Buell, CR., Sharma, SK., Marshall, DF., Waugh, R., Bryan, GJ., Destefanis, M., Nagy, I., Milbourne, D., Thomson, SJ., Fiers, M., Jacobs, JM., Nielsen, KL., Sønderkær, M., Iovene, M., Torres, GA., Jiang, J., Veilleux, RE., Bachem, CW., de Boer, J., Borm, T., Kloosterman, B., van Eck, H., Datema, E., Hekkert, Bt., Goverse, A., van Ham, RC., Visser, RG. (2011). *Nature* 475:189-195.





## PLAGAS DEL FRESNO DE HOJA ANCHA (*Fraxinus excelsior* L.)

Arnal Olivares, Alberto

Tutor: Martínez Laborde, Juan Bautista

Departamento de Biología Vegetal. E.T.S.I.A. Universidad Politécnica de Madrid  
a.arnal@alumnos.upm.es

### RESUMEN

Los fresnos de hoja ancha (*Fraxinus excelsior*) son atacados por muchos insectos, pertenecientes principalmente a los órdenes Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Diptera y Hemiptera, así como también por ácaros. Sin embargo, hasta el día de hoy, sólo se considera destructiva para *F. excelsior* una plaga: el barrenador esmeralda del fresno (*Agrilus planipennis*, Coleoptera), que ha mermado el número de fresnos en Estados Unidos. Este insecto cuenta con enemigos naturales para su control.

**Palabras clave:** Fitófagos, barrenador esmeralda del fresno, control biológico.

### INTRODUCCIÓN

El fresno de hoja ancha o fresno común (*Fraxinus excelsior* L.) es una conocida especie perteneciente a la familia Oleaceae (Andrés, 2011). El fresno de hoja ancha está muy bien valorado por su abanico de aprovechamientos: por su carácter ornamental, por su valor ecológico y por su aptitud como especie maderera (FRAXIGEN, 2005). Existen fitófagos más o menos importantes que se alimentan del fresno común y pueden llegar a comprometer su persistencia como especie. El objetivo de esta revisión bibliográfica es proporcionar una recopilación de los fitófagos (insectos y ácaros) que pueden constituirse como plaga sobre el fresno de hoja ancha.

### PLAGAS DEL FRESNO COMÚN O DE HOJA ANCHA

Las plagas del fresno de hoja ancha se pueden clasificar según el órgano donde se establece el organismo y su forma de alimentarse (Tabla 1). Además de los citados en la Tabla 1, se encuentran insectos más polífagos, como *Operophtera brumata* (Lepidoptera: Geometridae), *Zeuzera pyrina* (Lepidoptera: Cossidae) y *Xyleborus dispar* (Coleoptera: Curculionidae) (Ciesla, 2011; Nageleisen, 1992). Entre los insectos, los órdenes Lepidoptera y Coleoptera son los que incluyen mayor número de fitófagos del fresno, siendo las partes más atacadas la hoja y el cambium. De entre los fitófagos de hoja, cabe citar la mosca española o cantárida (*Lytta vesicatoria*, Coleoptera: Meloidae; Figura 1-j) que fue utilizada en el pasado como afrodisíaco (Melnik y Marcone, 2011).

La mayoría de fitófagos del fresno no ocasionan daños graves. Sin embargo, otros fitófagos son más dañinos y pueden llegar a debilitar el árbol o causarle la muerte. Estos fitófagos son *Abraxas pantaria*, *Lymantria dispar* y, en especial, el barrenador esmeralda del fresno, conocido por los profesionales del control de plagas forestales como EAB (*Agrilus planipennis*). Por el momento, el EAB sólo es una amenaza potencial para *Fraxinus excelsior*, al no haber llegado aún a Europa. La alarma surgió en la década de 1990 a raíz de la masiva muerte de fresnos americanos (*Fraxinus americana* L.) en Estados Unidos, donde a día de hoy ha matado varios millones de árboles (Bauer et al., 2010; Stratford, 2009). Desde entonces, aparte del elevado número de árboles muertos, muchos estados de Estados Unidos han visto mermados los ingresos económicos derivados del uso de esta especie (Global Invasive Species Database, 2010).

En la actualidad se conocen enemigos naturales del EAB, de *Abraxas pantaria* y de *Lymantria dispar*. Del EAB se mencionan aves (Lindell et al., 2008) hongos (Bauer et al., 2004) e insectos (Figura 1). En el caso de *Abraxas pantaria*, se cita *Cotesia callimone* (Himenoptera: Braconidae), en larvas (Özbek y Çalmaşur, 2009) y, en el de *Lymantria*



*dispar*, se citan *Glyptapantheles porthetridae* (Hymenoptera: Braconidae) y *Calosoma sycophanta* (Coleoptera: Carabidae) (Nussbaumer y Schopf, 2000).

**Tabla 1. Fitófagos del fresno común agrupados por el daño causado. Nombre científico, orden y familia de cada fitófago, estadio del ciclo vital dañino y referencias bibliográficas. Entre paréntesis, la posición del insecto en la figura 1.**

| ESPECIE   | ORDEN         | FAMILIA               | ESTADIO | REFERENCIAS                                      |
|---|---------------|-----------------------|---------|--|
| <b>DEFOLIACIONES (INSECTOS)</b>                 |               |                       |         |  |
| <i>Abraxas pantaria</i> (h)                     | Lepidoptera   | <i>Geometridae</i>    | Oruga   | Özbek y Çalmaşur (2009)                          |
| <i>Laeosopis roboris</i> (g)                    | Lepidoptera   | <i>Lycaenidae</i>     | Oruga   | Chinery (2009)                                   |
| <i>Lymantria dispar</i> (d)                     | Lepidoptera   | <i>Lymantridae</i>    | Oruga   | Nageleisen (1992)                                |
| <i>Macrophya punctumalbum</i> (b)               | Hymenoptera   | <i>Tenthredinidae</i> | Larva   | Ruhnke et al. (2006)                             |
| <i>Stereonychus fraxini</i> (l)                 | Coleoptera    | <i>Curculionidae</i>  | Todos   | Ciesla (2011)                                    |
| <i>Tomostethus nigrinus</i>                     | Hymenoptera   | <i>Tenthredinidae</i> | Larva   | Ruhnke et al. (2006)                             |
| <b>AGALLAS EN LAS HOJAS (INSECTOS)</b>          |               |                       |         |  |
| <i>Dasineura fraxinea</i>                       | Diptera       | <i>Cecidomyiidae</i>  | Larva   | Skrzypczyńska (2002), Skuhravý y Skuhravá (1993) |
| <i>Dasineura fraxini</i> (e)                    | Diptera       | <i>Cecidomyiidae</i>  | Larva   | Skuhravý y Skuhravá (1993)                       |
| <i>Psyllopsis fraxini</i>                       | Homoptera     | <i>Psylloideae</i>    | Larva   | Skrzypczyńska (2002)                             |
| <i>Vasates fraxini</i>                          | Trombidiforma | <i>Eryophyidae</i>    | Todos   | Skrzypczyńska (2002)                             |
| <b>MINAS O GALERÍAS EN LAS HOJAS (INSECTOS)</b> |               |                       |         |  |
| <i>Aulagromyza heringii</i>                     | Diptera       | <i>Agromyzidae</i>    | Larva   | Spencer (1972)                                   |
| <b>MINAS O GALERÍAS EN LAS YEMAS (INSECTOS)</b> |               |                       |         |  |
| <i>Prays fraxinella</i> (c)                     | Lepidoptera   | <i>Yponomeutidae</i>  | Oruga   | Kerr y Boswell (2001)                            |
| <b>CHUPADORES DE SAVIA (INSECTOS)</b>           |               |                       |         |  |
| <i>Prociphilus fraxinifolii</i>                 | Homoptera     | <i>Aphididae</i>      | Todos   | Nageleisen (1992)                                |
| <i>Pseudochermes fraxini</i>                    | Hemiptera     | <i>Eriococcidae</i>   | Todos   | Moraal y Goedhart (1999)                         |
| <b>GALERÍAS EN LA MADERA (INSECTOS)</b>         |               |                       |         |  |
| <i>Pododesia syringae</i> (k)                   | Lepidoptera   | <i>Sesiidae</i>       | Oruga   | Ciesla (2011)                                    |
| <b>PERFORADORES DEL CAMBIUM (INSECTOS)</b>      |               |                       |         |  |
| <i>Agilus planipennis</i> (a)                   | Coleoptera    | <i>Cerambycidae</i>   | Larva   | Bauer et al. (2010)                              |
| <i>Hylesinus</i> sp. (i)                        | Coleoptera    | <i>Scolytidae</i>     | Larva   | De Andrés (1997), Nakládal y Turčáni (2007)      |
| <i>Leperisinus</i> sp.                          | Coleoptera    | <i>Scolytidae</i>     | Larva   | Nageleisen (1992)                                |
| <b>AGALLAS EN LAS FLORES (ÁCARO)</b>            |               |                       |         |  |
| <i>Aceria fraxinivora</i> (f)                   | Trombidiforma | <i>Eryophyidae</i>    | Todos   | Xue et al. (2010)                                |

**Tabla 2. Algunos insectos enemigos naturales del barrenador esmeralda del fresno. Nombre científico, orden y familia de cada especie, estadio del ciclo vital del EAB susceptible y referencias bibliográficas.**

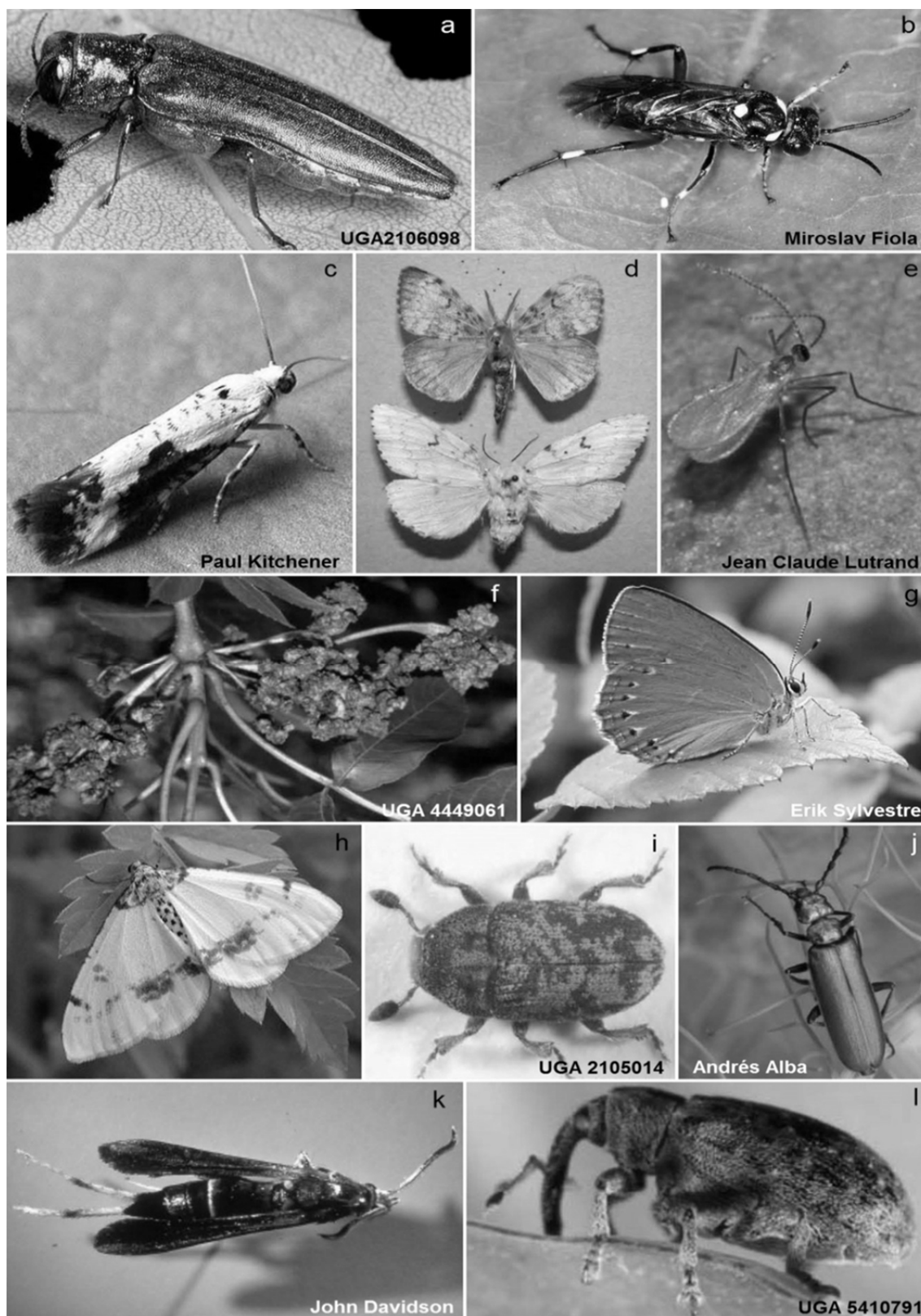
| ESPECIE                                      | ORDEN       | FAMILIA              | ESTADIO        | REFERENCIAS         |
|--|-------------|----------------------|----------------|---------------------|
| <i>Catogenus rufus</i> <sup>1</sup>          | Coleoptera  | <i>Passandridae</i>  | Larva y adulto | Liu et al. (2003)   |
| <i>Chariessa pilosa</i> <sup>1</sup>         | Coleoptera  | <i>Cleridae</i>      | Adulto         | Garske (2013)       |
| <i>Enoclerus</i> sp. <sup>1</sup>            | Coleoptera  | <i>Cleridae</i>      | Adulto         | Liu et al. (2003)   |
| <i>Tenebroides</i> sp. <sup>1</sup>          | Coleoptera  | <i>Trogossitidae</i> | Larva y adulto | Liu et al. (2003)   |
| <i>Atanycolus</i> sp. <sup>2</sup>           | Hymenoptera | <i>Braconidae</i>    | Larva          | Marsh et al. (2009) |
| <i>Balcha indica</i> <sup>2</sup>            | Hymenoptera | <i>Eupelmidae</i>    | Larva          | Duan et al. (2011)  |
| <i>Cerceris fumipennis</i> <sup>1</sup>      | Hymenoptera | <i>Cabronidae</i>    | Larva y adulto | Stratford (2009)    |
| <i>Heterospilus</i> sp. <sup>2</sup>         | Hymenoptera | <i>Braconidae</i>    | Larva y pupa   | Liu et al. (2003)   |
| <i>Oobius agrili</i> <sup>3</sup>            | Hymenoptera | <i>Encyrtidae</i>    | Huevo          | Duan et al. (2010)  |
| <i>Pediobius</i> sp. <sup>3</sup>            | Hymenoptera | <i>Eulophidae</i>    | Huevo          | Liu et al. (2003)   |
| <i>Phasgonophora sulcata</i> <sup>3</sup>    | Hymenoptera | <i>Calchicidae</i>   | Larva y pupa   | Liu et al. (2003)   |
| <i>Spathius agrili</i> <sup>2</sup>          | Hymenoptera | <i>Braconidae</i>    | Larva          | Yang et al. (2010)  |
| <i>Tetrastichus planipennis</i> <sup>3</sup> | Hymenoptera | <i>Eulophidae</i>    | Larva          | Abell et al. (2012) |

1, depredador; 2, ectoparásito; 3, endoparásito.





**Figura 1. Doce fitófagos del fresno. a, *Agrilus planipennis*; b, *Macrophya punctumalbum*; c, *Prays fraxinella*; d, *Lymantria dispar* (arriba, macho; abajo, hembra); e, *Dasineura fraxini*; f, *Aceria fraxinivora*; g, *Laeosopsis roboris*; h, *Abraxas pantaria*; i, *Hylesinus* sp.; j, *Lytta vesicatoria*; k, *Pododesia fraxini*; l, *Stereoninchus fraxini*.**





## CONCLUSIONES

1. Abundan especies de fitófagos cuyas larvas (y a veces adultos) se alimentan de diferentes partes del fresno. Muchas de ellas no revisten importancia y no están suficientemente estudiadas.
2. *Agrilus planipennis* es actualmente el fitófago más peligroso para el fresno común.
3. El control integrado de plagas podría controlar las poblaciones de *A. planipennis*.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos aquéllos que han hecho posible este último trabajo y a los profesores que me dieron en su día la oportunidad de hacer el Proyecto Final de Carrera sobre esta especie tan emblemática y convertir la recta final de la titulación en mi mayor reto de aprendizaje. Ahora, después de casi tres años de terminar mis estudios y a pesar de no haber continuado con los fresnos, sigo avanzando y trabajando en base a los valores que me habéis transmitido.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abell K., Duan J., Bauer L.S., Lelito J., Van Driesche R. 2012. *Biol. Control* 63 (3), 320-325.
- Andrés C. 2011. *Fraxinus*. En: *Flora Iberica, plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares*. (Andrés C., Quintanar A., Talavera S., eds.) Volumen XI. Madrid: Real Jardín Botánico.
- Bauer L.S., Gould J., Duan J., Ulyshen, M., 2010. Biological Control. *USDA Research Forum of Invasive Species GTR*, 70-73.
- Bauer L.S., Liu H., Haack R.A., Petrice, T.R.; Miller, D.L.. 2004. Natural enemies of emerald ash borer in southeastern Michigan, pp 33-34. En: *Emerald Ash Borer Research and Technology Development Meeting*, Port Huron, MI, 30 September-1 October 2003. USDA Forest Service, Fort Collins.
- Chinery M. 2009. *Guía de los insectos de Europa*. Ediciones Omega.
- Ciesla W. 2011. *Forest entomology: A global perspective*. Noida: Wiley-Blackwell.
- De Andrés F. 1997. *Enfermedades y plagas del olivo*. Jaén: Riquelme y Vargas Ediciones S.L.
- Duan J., Bauer L.S., Ulyshen M., Gould J., Van Driesche, R. 2010. *Biological Control* 56, 170-174.
- Duan J., Taylor P., Fuester R. 2011. *J. Insect Sci.* 11, 170-174. Article 127.
- FRAXIGEN. 2005. *Ash Trees in Europe: Biological characteristics and practical guidelines for sustainable use*. Oxford: University of Oxford.
- Garske, G. 2013. Risk Assessment from Emerald Ash Borer and Other Forest Pests Upon Commonly Harvested Forest Trees (Ash, Balsam, Birch, Maple and Oak) in the Ojibwe Ceded Territories. Great Lakes Indian Fish & Wildlife Commission. Recuperado el 13 de enero de 2014. <http://www.glifwc.org/Reports/Project%20Report%2013-03.pdf>.
- Global Invasive Species Database. 2010. *Agrilus Planipennis*. Recuperado el 20 de noviembre de 2013. [http://www.issg.org/database/species/distribution\\_detail.asp?si=722&di=50399&pc=\\*&lang=EN](http://www.issg.org/database/species/distribution_detail.asp?si=722&di=50399&pc=*&lang=EN)
- Kerr G., Boswell R., 2001. *Forestry* 74 (1), 29-40.
- Lindell C.A., McCullough D.G., Cappaert D., Apostolou N.M., Roth M.B. 2008. *Am. Midl. Nat* 159 (2), 434-444.
- Liu H., Bauer L.S., Gao R, Zhao T., Petrice T.R., Haack R.A. 2003. *The Great Lakes Entomologist* 36 (3&4): 191-204.
- Marsh P., Strazanac J., Laurusonis S. 2009. *The Great Lakes Entomologist* 42, 8-15.
- Melnyk J., Marcone M., 2011. *Food Res. Int.* 44 (4), 840-850.
- Moraal L., Goedhart P. 1999. *Colloques de l'INRA* 90, 111-120.
- Nageleisen L. 1992. *Rev. For. Fr.* XLIV n°. sp, 121-126.
- Nakládal O., Turčáni M. 2007. *J. For. Sci.* 53 (Special Issue), 53-56.
- Nussbaumer C., Schopf A. 2000. *Eur. J. Entomol.* 97 (3), 355-361.
- Özbek H. Çalmaşur Ö. 2009. *Turk. J. Zool.* 34 (3), 351-358.
- Ruhnke H., Schädler M., Matthies D., Klotz S., Brandl R. 2006. *Evol. Ecol. Res.* 6, 1039-1048.
- Skrzypczyńska M. 2002. *J. Pest Sci.* 75 (1), 11-12.
- Skuhravý V., Skuhravá M. 1993. *Anzeiger für Schädlingkunde Pflanzenschurz Umweltschutz* 66, 134-140.
- Spencer K. 1972. *Diptera, Agromyzidae. Handbooks for the Identification of British Insects* 10. Royal Entomological Society of London.
- Stratford P. 2009. Biosurveillance: utilizing a beetle hunting wasp (*Cerceris fumipennis*, Hymenoptera: Crabronidae) to detect infestations of emerald ash borers (*Agrilus planipennis*, Coleoptera: Buprestidae). *Trabajo Fin de Máster*. Guelph, Ontario, Canadá: University of Guelph.
- Xue X., Sadeghi H., Hong X. 2009. *Internat. J. Acarol.* 35 (6), 461-483.
- Yang Z., Wang X., Gould J., Reardon R., Zhang Y., Liu G.J., Liu E.S. 2010. *J. Insect Sci.* 10, Artículo 30.



## AGRICULTURA DE PRECISIÓN EN BRASIL

Rocha de Moraes Rego, Carlos Augusto<sup>1</sup>; Penha Costa, Bruna<sup>2</sup>  
Tutor: Valero Ubierna, Constatino<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Becado del programa Ciencia sin Fronteras (CNPQ/BRASIL). Grado en Ingeniería Agronómica. Universidad Estadual do Maranhão. Correo electrónico: cassielcarlos@hotmail.com

<sup>2</sup>Grado en Ingeniería Agronómica. Universidad Estadual do Maranhão. Correo electrónico: bruna.penhacosta@hotmail.com

<sup>3</sup>Departamento de Ingeniería Agroforestal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. constantino.valero@upm.es

### RESUMEN

La adopción de técnicas y tecnologías precisas para el manejo adecuado del agroecosistema puede reducir significativamente el impacto ambiental, debido a un mejor uso del suelo y a la optimización de la aplicación de fertilizantes y agroquímicos. La agricultura de Precisión (AP) es un sistema integrado de gestión de la información y las tecnologías aplicadas a la explotación agrícola, que se basa en los conceptos de la variabilidad del espacio y el tiempo de los rendimientos de los cultivos y de otros condicionantes de la producción pueden convertirse en un ahorro en recursos. El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica de la introducción de la agricultura de precisión en Brasil y sus principales contribuciones en el ámbito agrario del país. El análisis llevado a cabo por varios autores sugirió que la adopción del AP en Brasil estaba ocurriendo lentamente y de manera desigual.

**Palabras clave:** Gestión de información, Manejo, Sistema de Producción

### INTRODUCCION

La agricultura de precisión (AP), también llamada de **Precision Agriculture**, **Precision Farming** o **Site-Specific Crop Management**, consiste en un conjunto de principios y tecnologías aplicadas al manejo de la variabilidad espacial y temporal asociada a la producción agrícola, logrando aumentar la productividad de los cultivos y mejorar la gestión ambiental (Pierce & Nowak, 1999). La AP se dirige a la gestión más detallada del sistema de producción agrícola en su conjunto, no sólo las aplicaciones de insumos en dosis variables según las necesidades vegetativas o las características del suelo, sino de todos los procesos que intervienen en la producción (Batchelor et al. 1997; Campo, 2000).

Según Capelli (1999) la AP presenta las ventajas de posibilitar un mejor conocimiento del medio de producción, permitiendo que, de esta forma la toma de decisiones esté mejor encaminada. Ello posibilita una mayor capacidad y flexibilidad para la distribución de los insumos en los sitios específicos y en el tiempo en que son más necesarios, disminuyendo los costos de producción. Frecuentemente se consigue mejorar la uniformidad en la productividad, por la corrección localizada y precisa de los factores que contribuyen en su variabilidad, obtenidos con ello un aumento global de la productividad.

En la AP implícita la idea de que existe una gran variabilidad en las zonas agrícolas y que por eso es necesario crear las condiciones de gestión que tengan en cuenta esta diversidad (Mantovani et al., 1998). Por lo tanto, las acciones en un área deben tener en cuenta la aplicación de determinadas prácticas en un punto y tiempo considerado, que se presentan como potencial productivo más sensible, y con un menor impacto sobre el medio ambiente (Mantovani et al., 1998).



Hoy en día la AP abarca un concepto más amplio, y es considerada por la mayoría de los expertos en información y teledetección como un sistema de gestión de la producción agrícola integrado, donde son definidas y aplicadas tecnologías y procedimientos para optimizar los sistemas de producción agrícolas y ganaderos, centrada en la gestión de las diferencias productivas y factores que intervienen en la producción (Mantovani et al., 1998).

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica de la introducción de la agricultura de precisión en Brasil y sus principales contribuciones.

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En Brasil, la agricultura de precisión se introdujo a mediados de 1990, pero solo a partir del año 2000 tuvo una mayor expansión, debido a los avances en la tecnología electrónica y popularización de los equipos de GPS (Global Positioning System). La industria de la maquinaria agrícola juega un papel importante en esta fase, con la introducción de conceptos como el mapeo de la productividad de los cultivos de cereales y aplicaciones de georreferenciación en la agricultura. La adopción de la AP se llevó a cabo con tecnología totalmente importada, especialmente por las empresas multinacionales fabricantes de maquinaria.

En el ámbito de estudios académicos, este nuevo sistema introducido al Brasil se introdujo primero gracias a la Escuela Superior de Agricultura “Luiz de Quieroz”, unidad de la Universidad de São Paulo, que fue una de las instituciones pioneras en estudios en AP al organizar en 1996 el primer Simposio sobre Agricultura de Precisión. Después la Universidad de Santa María, en sur del país, pasó a ser uno de los centros más representativos sobre la temática de AP, logrando crear un master profesional en AP.

Con el desarrollo de estudios académicos por instituciones de enseñanza superior sobre AP no pasó mucho tiempo hasta que la EMBRAPA (Empresa Brasileña de Pesquisa Agropecuaria) empezara también a contribuir con el desarrollo de la Agricultura de Precisión en el país, logrando crear la organización de una Red de Investigación con más de 200 investigadores, 19 unidades de investigación y varios colaboradores de las universidades, institutos de investigación y empresas privadas. La red de AP cuenta hoy con 15 áreas experimentales distribuidas en el Noreste, Centro-Oeste, Sudeste y Sur del país, que cubre los cultivos anuales (maíz, soja, trigo, algodón y arroz de regadío) y cultivos perennes (eucalipto, el pomelo, la caña de azúcar, y frutales como la naranja, manzana y melocotón).

Los productores pioneros que habían empezado a aplicar la AP, debido a los equipos electrónicos disponibles en las nuevas maquinarias, y a que tenían un contacto muy estrecho con las instituciones de investigación, muchos de ellos con sus propiedades como áreas de prueba. El productor rural busca innovaciones, tales como a AP, esperando obtener beneficios que el conjunto de tecnologías asociadas al sistema de AP le puede proporcionar, como (Costa y Guilhoto, 2011):

- a) reducción en los costes, por el menor uso de insumos agrícolas;
- b) reducción en la polución de la agua y del medio ambiente y;
- c) aumento de la productividad agrícola por la aplicación más eficiente de los insumos.

Paralelamente al desarrollo de los estudios de la AP en los centros de investigación se fue produciendo la implantación de los nuevos sistemas en la maquinaria y el pequeño número de productores que habían comenzado a utilizar este nuevo sistema de producción, aunque existen pocos estudios sobre la adopción de las tecnologías de AP y los factores condicionantes de la adopción en las propiedades rurales. El análisis realizado por Griffin y Lowenberg-De Boer (2005) sugirió que la adopción del AP en Brasil



estaba ocurriendo lentamente y de manera desigual. Entre los factores que contribuyeron a la demora en la adopción de la tecnología estuvieron los bajos precios de la tierra, el bajo costo de la mano de obra, escasez de trabajo, poco uso de los ordenadores en las granjas y el alto costo de los equipos importados de alta tecnología. Souza et al. (2011) realizaron una discusión sobre los condicionantes de la adopción de tecnologías en la agricultura y afirman que hay cuatro conjuntos de factores que pueden influir en la decisión de adopción de las innovaciones tecnológicas en la agricultura:

- 1) condiciones socioeconómicas y características del productor;
- 2) características de la producción y de la propiedad rural;
- 3) características de la tecnología;
- 4) factores sistémicos.

Los mismos autores también afirman que el proceso de adopción y transferencia de tecnología es complejo e inherentemente social, influenciado por los pares, agentes internacionales, presiones de organizaciones varias y normas sociales. Sin embargo los factores expuestos por Souza et al. (2011) fueron extraídos de datos de diversos trabajos en el mundo y por eso puede ser una súper o subestimación de la realidad en Brasil.

En la realidad en el Brasil hoy, los beneficios de la AP están agrupados en dos grandes organizaciones que actúan como fuente de información: a través del Congreso Brasileño de Agricultura de Precisión (ConBAP) y a través de la plataforma de la Red de AP organizada por la EMBRAPA. El ConBAP es un evento que reúne diversos profesionales que van a exponer los logros de sus trabajos con la AP y compartir sus experiencias. Este evento se celebra cada dos años y en cada realización se logra un aumento de participantes y de exposiciones de los trabajos desarrollados en el Brasil. Según el propio presidente de la ConBAP el evento de 2014 ha tenido una participación de 317 inscritos. También promovidas por la Red de AP surgieron publicaciones sobre AP, sus aplicaciones y resultados. En 2011 la misma red ha publicado un libro llamado “Agricultura de precisao: Um novo olhar” que reúne contribuciones de los investigadores con experiencias de muchas partes del Brasil, y en 2014 otro libro llamado “Agricultura de precisao: Resultados um novo olhar” como una continuación de los trabajos desarrollados.

Otros estudios sobre la adopción de AP en Brasil aplicada a los sistema de producción que merece la pena mencionar son el trabajo de Silva et al. (2011), para las industrias de azúcar y etanol en la comunidad de São Paulo; el de Anselmi (2012) sobre la adopción de la AP en la comunidad del Río Grande do Sul; el de Machado et al. (2004) sobre la adopción por los productores de soja de las técnicas de aplicación variable de insumos; el de Silva et al. (2007) sobre el estudio de la variabilidad química del suelo y los efectos en los rendimiento en el café; y finalmente el de Corá et al. (2004), en el que estudian la variabilidad espacial de los atributos del suelo para adopción de AP en la producción de la caña de azúcar y otros. Sin embargo faltan resultados sobre la extensión de la adopción de la AP y una sistematización de esta información de manera hábil y accesible.

### CONCLUSIONES

En relación a los análisis llevados a cabo por varios autores, la adopción del AP en Brasil está ocurriendo lentamente y de manera desigual. Entre los factores que contribuyeron a la demora en la adopción de la tecnología fueron: los precios de la tierra que son relativamente bajos, el bajo costo de la mano de obra, poco uso de la información en las explotaciones y el alto costo de los equipos importados de alta tecnología y la distancia de los productores con los centros de investigaciones.

Sin embargo es notable el impulso organizativo que han liderado varias instituciones brasileñas, creando una potente Red de AP que está ayudando a potenciar los estudios y a aplicar estas tecnologías de forma útil y racional.



La comprensión de los factores que influyen en la adopción de AP puede ser fundamental para diseñar estrategias que permitan su distribución a los sectores agroindustriales brasileños.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq/BRASIL), por la beca de grado, en el exterior, mediante el Programa Ciencia Sin Fronteras.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Anselmi, A.A. 2012. Adoção da Agricultura de Precisão no Rio Grande do Sul. 2012. 104 f. tese (Mastrar). en el Centro de Estudios y Pesquisas em Agronegócios. Universidad Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- Batchelor, B.; Whigham, K.; Dewitt, J. 1997. Precision agriculture: introduction to precision agriculture. Iowa Cooperative Extension, 4p.
- Campo, P. do. 2000. Agricultura de precisão. Inovações do campo. Piracicaba.
- Capelli, N.L. 1999. Agricultura de precisão - Novas tecnologias para o processo produtivo. LIE/DMAQAG/FEAGRI/UNICAMP.
- Costa, C.C.; Guilhoto, J. J. M. 2011. Impactos da agricultura de precisão na economia brasileira. In: Agricultura de precisão: um novo olhar. 1ed. São Carlos: Embrapa Instrumentação. p. 307-322.
- Griffin, T.W.; Lowenberg-Deboer, J. 2005. Worldwide adoption and profitability of precision agriculture: Implications for Brazil. Rev. Polít. Agríc, Brasília, v.14, n.4, p.20-37.
- Machado, P.L.O.A.; Silva, C.A.; Bernardi, A.C.C. 2004. Variabilidade de atributos de fertilidade e espacialização da recomendação de adubação e calagem para a soja. In: Agricultura de precisão para o manejo da fertilidade do solo em sistema de plantio direto. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, p.115-129.
- Mantovani, E.C.; Queiroz, D.M.; Dias, G.P. 1998. Máquinas e operações utilizadas na agricultura de precisão. In: Mecanização e agricultura de precisão. Poços de Caldas: UFLA/SBEA, p.109-157.
- Pierce, F.J.; Nowak, P. 1999. Aspects of precision agriculture. Adv. Agronomy, v. 67, p. 1-85.
- Corá, E., Araujo, A.V., Pereira, G.T. 2004. Variabilidade espacial de atributos do solo para adoção do sistema de agricultura de precisão na cultura de cana-de-açúcar. Revista Brasileira de Cienciado Solo, v.28. n.6, p.1 0 13-1 021.
- Souza, F.H.M.; Buainain, A.M.; Silveira, J.M.F.J.; Vinholis, M.M.B. 2011. Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v.28, n. 1, p.223-255.
- Silva, C.B.; Moraes, M.A.F.D.; Molin, j.p. 2010. Adoption and use of precision agriculture technologies in the sugarcane industry of São Paulo state, Brazil. Prec. Agriculture, p.1-15.
- Silva, F.M.; Souza, Z.M.; Figueiredo, C.A.P.; Marques J., J.; Machado, R.V. 2007. Variabilidade espacial de atributos químicos e de produtividade na cultura do café. Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.2, p.401-7.



## IN-FORMA-ME: ANÁLISIS CUANTITATIVO DE CAMBIOS MORFOLÓGICOS EN COLONIAS DE LEVADURA

Gil de Prado, Elena<sup>1</sup>; Rivas, Eva María<sup>1</sup>; de Silóniz, María Isabel<sup>1</sup>

Tutores: Barreiro, Pilar<sup>2</sup>; Diezma-Iglesias, Belén<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Microbiología III. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. CEI-Moncloa.

<sup>2</sup>Dpto. de Ingeniería Rural. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. CEI-Moncloa.  
elena.gil@ucm.es

### RESUMEN

Las levaduras pueden crecer en medio sólido como colonias superficiales. Su forma y borde se pueden emplear en la identificación del género y/o la especie a que pertenecen. Nosotros hemos definido dos parámetros para describir cuantitativamente la morfología de colonias; el índice de excentricidad ( $E_i$ ) calculado como el ratio entre los diámetros ortogonales vertical y horizontal y, el índice de Fourier ( $F_i$ ) definido como el número mínimo de coeficientes de Fourier que son necesarios para modelizar el borde de la colonia con una bondad de ajuste del 99%. Este análisis se ha automatizado utilizando Matlab. Este estudio se ha realizado con cuatro cepas pertenecientes a cuatro especies diferentes y comparando nuestros resultados con los previamente publicados se concluye que la inhibición entre colonias es una característica que se encuentra más extendida entre levaduras que la irregularidad del borde. Actualmente estamos aplicando dicha rutina para el análisis del efecto de otros factores intrínsecos y extrínsecos sobre la morfología de la colonia.

**Palabras clave:** Colonias de levadura, índice de Fourier, índice de excentricidad.

### INTRODUCCION

La forma y borde de las colonias han sido características morfológicas usadas tradicionalmente en el proceso de identificación de cepas microbianas, incluidas las levaduras (Barnett et al., 1990). Esta metodología descriptiva ha sido mejorada mediante la incorporación de nuevas técnicas de análisis de imagen que permiten obtener resultados cuantitativos de forma más rápida y automatizada (Puchkov, 2010).

Tanto la afiliación taxonómica (Kocková-Kratochvilová, 1990) como muchos factores externos se encuentran involucrados en las diferencias de la morfología de las colonias, así como las condiciones ambientales de crecimiento (fuente de carbono, concentración de agar y temperatura de crecimiento, entre otros) (Boschke y Bley, 1998; Granek y Magwene, 2010). Los cambios morfológicos también pueden deberse a la interacción entre colonias. Una colonia puede inhibir el crecimiento de una colonia vecina por señalización intercolonial (Palková et al., 1997).

El objetivo de este estudio ha sido la búsqueda y validación de métodos que permitan una medida cuantitativa de los caracteres morfológicos relevantes de colonias de levaduras. Se proponen dos índices que miden con exactitud y precisión dos procesos relacionados con la morfología de las colonias: el cambio en la morfología inducido en pares de colonias por señalización intercolonial (índice de excentricidad) y el incremento de la irregularidad del borde de las colonias conforme aumenta la edad de las mismas (índice de Fourier). Esta metodología ha sido aplicada en cuatro especies de levaduras: *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces fabryi*, *Rhodotorula glutinis* y *Zygosaccharomyces rouxii*.



## MATERIAL Y MÉTODOS

Cuatro especies, seleccionadas por sus diferencias filogenéticas y de metabolismo energético, fueron usadas en este estudio: *S. cerevisiae* ATCC 7754, *D. fabryi* PR66, *R. glutinis* CECT 10145 y *Z. rouxii* Bch. Las cepas se inocularon como gotas de 10  $\mu$ l, que contenían  $10^3$  Unidades Formadoras de Colonias (UFC), en puntos previamente señalados de placas de Petri con 15 ml de un medio de cultivo general de levaduras, YMA (Yeast Morphology Agar, glucosa 1%, proteosa de peptona nº3 0.5%, extracto de levadura 0.3%, extracto de malta 0.3% y agar 2%). Las placas fueron inoculadas para obtener i) una única colonia (situada en el centro), ii) dos colonias (separadas a una distancia de 2, 3 y 5 cm), y iii) seis colonias en la misma placa (separadas por las mismas distancias). Las placas fueron cubiertas con parafilm para evitar la desecación e incubadas durante 116 días a 28°C.

Las fotografías digitales en escala de grises se realizaron con el capturador y analizador de imágenes Vilber Lourmat a partir del segundo día de incubación. Las fotografías se analizaron mediante el uso de unas rutinas Matlab v. 7.0 (MathWorks). Primero, se realizó una segmentación automática empleando el método Otsu, para diferenciar los objetos de la imagen del fondo. Finalmente, diversos parámetros de las colonias (área, diámetros mayor y menor) fueron calculados en píxeles y transformados a milímetros a través de un factor de conversión. El índice de excentricidad ( $E_i$ ) fue calculado como el cociente entre los valores de los diámetros ortogonales mayor y menor de cada colonia. El índice de Fourier se obtuvo automáticamente a partir de una función *ad hoc* (Matlab). El método de la elíptica de Fourier (Kuhl y Giardina, 1982) calcula los descriptores armónicos de la elíptica de Fourier, aquí simplificados como coeficientes de Fourier, que pueden delinear cualquier tipo de forma con un contorno cerrado de dos dimensiones. En este estudio, la complejidad de los bordes de las colonias fue evaluada a través del número de coeficientes de Fourier necesarios para reproducir las coordenadas  $x$  e  $y$  con coeficientes de correlación de 0.998 o superiores. Hemos denominado a este número el índice de Fourier ( $F_i$ ). La Figura 1 muestra el desarrollo del proceso de correlación con el ajuste de aproximación de las elípticas de Fourier al borde de una colonia de *S. cerevisiae*, generado para valores de  $F_i$  de 1, 8, 14 y 30 y sus correspondientes coeficientes de correlación.

**Figura 1. Aproximación de Fourier al borde de una colonia de *S. cerevisiae*: (A) Imagen original; (B)  $F_i = 1$  y coeficiente de correlación para  $x$  e  $y$  ( $CC_{xy}$ ) = 0.992; (C)  $F_i = 8$  y  $CC_{xy}$  = 0.996; (D)  $F_i = 14$  y  $CC_{xy}$  = 0.998; y (E)  $F_i = 30$  y  $CC_{xy}$  = 0.999**



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

-Análisis cuantitativo de la circularidad de las colonias: índice de excentricidad

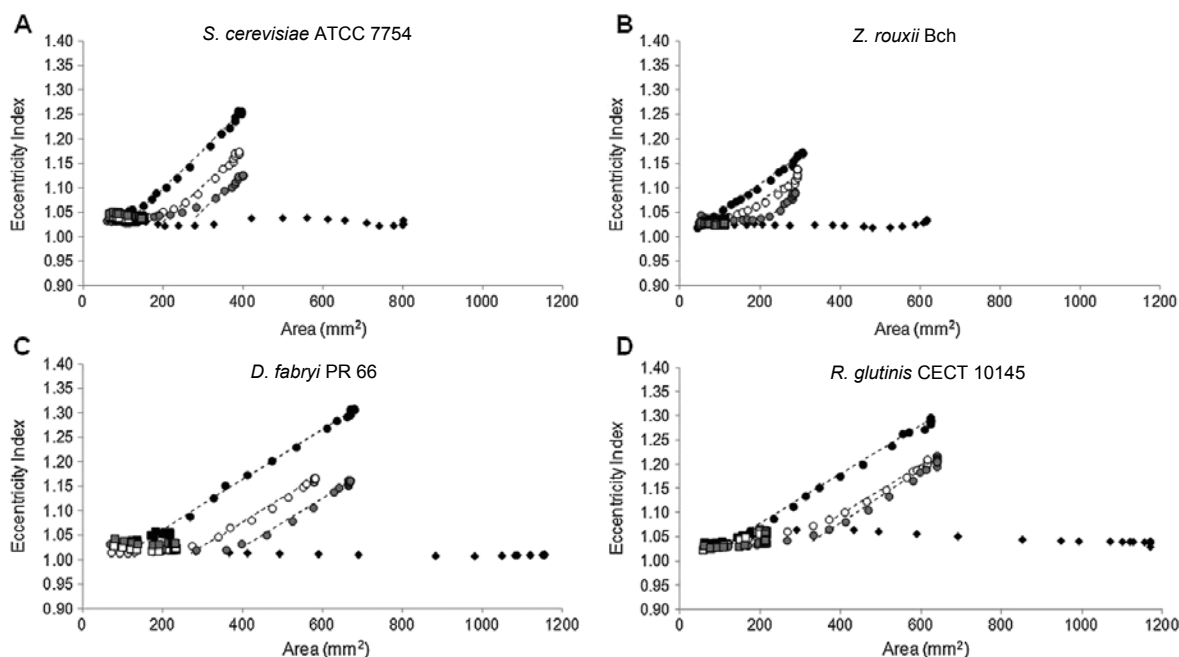
El índice de excentricidad se mantuvo cercano a 1 con una colonia por placa y la pérdida de circularidad ( $E_i > 1$ ) se observaba en placas con al menos dos colonias en cualquiera de las especies (Figura 2). Así concluimos que el incremento en  $E_i$  es consecuencia de las interacciones entre las colonias y no de su edad. La pérdida de circularidad en los pares de colonias es producida por un mensajero químico, el amonio (Palková et al., 1997), que produce una inhibición del crecimiento en los bordes enfrentados de las colonias. La inhibición afecta únicamente los lados enfrentados, evitando su unión, y





permitiendo el crecimiento en el resto del borde de la colonia (Gil de Prado et al., 2014), no existiendo una inhibición en términos de tamaño total de la colonia.

**Figura 2. Relación entre el índice de excentricidad de la colonia y su área. Una colonia, rombos; dos colonias, círculos; seis colonias, cuadrados. Distancias entre colonias vecinas: 2 cm, negro; 3 cm, blanco; 5 cm, gris. Regresión lineal, líneas discontinuas. Cada punto está calculado como la media de al menos tres colonias procedentes de placas distintas.**



En la Figura 2 se observa que la distancia entre las colonias es un factor importante en la pérdida de circularidad ya que el aumento de la misma retrasa el efecto observado o incluso no llega a aparecer si la distancia entre colonias es igual o superior a 5 centímetros. Un tamaño mínimo de las colonias (área umbral), tiene que ser alcanzado antes de que comience la inhibición. Una vez que la inhibición ha comenzado, el índice de excentricidad aumenta proporcionalmente con el área de las colonias y a una tasa constante, observándose líneas rectas paralelas en los gráficos, más claramente en las especies oxidativas (*D. fabryi* y *R. glutinis*) (Figura 2).

Todas las especies mostraron colonias jóvenes circulares, con valores de  $E_i$  iniciales entre 1.02-1.05 después de dos días de crecimiento. Sin embargo, el área umbral (datos no mostrados) era inferior en *Z. rouxii* que en las otras tres especies. El valor máximo de  $E_i$  depende del número de colonias por placa, porque este número determina el área máxima que puede ser alcanzada. Por ello, la excentricidad no se observó cuando el número de colonias por placa fue tal que ninguna de ellas alcanzó el área umbral (Figura 2) (Gil de Prado et al., 2014). Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la inhibición intercolonial es una propiedad general de las especies de levaduras (Palková et al., 1997; Palková y Forstová, 2000).

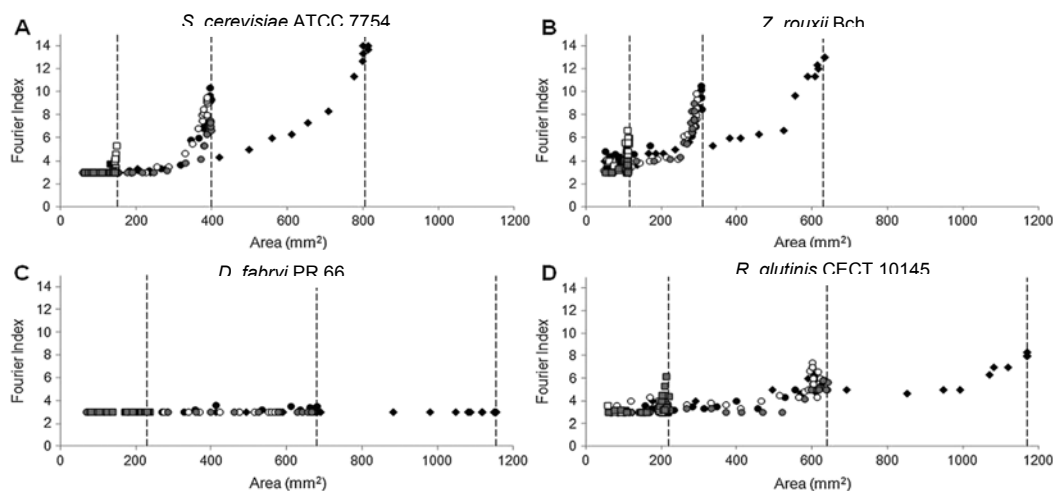
-Análisis cuantitativo de la complejidad del borde de las colonias: índice de Fourier

El índice de Fourier depende de la especie. En la Figura. 3 se representa la evolución de los valores  $F_i$  con el tamaño de la colonia para las cuatro especies. En colonias jóvenes, (2 ó 3 días)  $F_i$  mostraba el valor mínimo de 3 (elipse) en todas las especies, indicando que el borde era muy regular. En el caso de colonias maduras, se observaron diferencias considerables excepto en *D. fabryi*, especie en la que este valor se mantenía, pero en las especies fermentativas llegó a 14 (Figura 3). Se percibió un patrón común en todas las colonias que mostraban el efecto: el valor del  $F_i$  se mantenía constante y cercano a 3



hasta que el área de la colonia se aproximaba a su valor máximo. Después, se observaba un aumento repentino en la complejidad del borde, más abrupto conforme el número de colonias por placa aumentaba. En todos los experimentos, independientemente del número de colonias por placa y la distancia, el borde lobulado era una característica asociada a fases finales del crecimiento de la colonia, consecuencia del agotamiento de los nutrientes, como indicaron los estudios de Boschke y Bley (1998). Las especies fermentativas mostraron una complejidad del borde mucho mayor que las oxidativas.

**Figura 3. Relación entre el índice de Fourier de la colonia y su área. Una colonia, rombos; dos colonias, círculos; seis colonias, cuadrados. Distancias entre colonias vecinas: 2 cm, negro; 3 cm, blanco; 5 cm, gris. Valor máximo de área, líneas discontinuas verticales. Cada punto está calculado como la media de al menos tres colonias procedentes de placas distintas.**



## CONCLUSIONES

Hay pocos estudios del crecimiento de levaduras en medio sólido. El análisis de imagen constituye una herramienta muy útil para la obtención de gran cantidad de información de forma rápida y automática. El índice de excentricidad y el índice de Fourier han demostrado que pueden ser buenos parámetros para cuantificar la circularidad de las colonias y medir la complejidad de las mismas, respectivamente, a lo largo del tiempo permitiendo realizar comparaciones entre diferentes especies. Se propone la utilización de estos índices para el estudio cuantitativo del efecto de modificaciones genéticas y factores ambientales sobre la morfología de las colonias.

## AGRADECIMIENTOS

Financiado por el proyecto GR3/14 (UCM-Banco Santander) y las becas de investigación FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, y PICATA del Campus de Excelencia Internacional. A José M. Peinado del grupo de Hongos y Levaduras de Interés en Agroalimentación (UCM) por su colaboración.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D. 1990. Cambridge Univ. Press, Cambridge  
Boschke E. and Bley T.H. 1998. Acta Biotechnol., 1: 17–27.  
Gil de Prado E., Rivas E.M., de Silóniz, M.I., Diezma B., Barreiro P., Peinado J.M. 2014. Yeast, 31: 431–440.  
Granek J.A. and Magwene P.M. 2010. PLoS Genet., 6: doi: 10.1371/journal.pgen.1000823.  
Kocková-Kratochvilová A. 1990. 2<sup>nd</sup> edn. Wiley-VCH, Weinheim.  
Kuhl F.P. and Giardina C.R. 1982. Comput. Graphics Image Proc., 18: 236–258.  
Palková Z., Janderová B., Gabriel J., Zikánová B., Pospíšek M., Forstová J. 1997. Nature, 390: 532–536.  
Palková Z. and Forstová J. 2000. J. Cell. Sci., 113: 1923–1928.  
Puchkov E.O. 2010. Microbiology, 79: 141–146.



## DESAFÍOS EN EL DESARROLLO DE SUSTRATOS PARA PLÁNTULAS DE ESPÁRRAGO (*Asparagus officinalis* L.)

Vasque, Henrique<sup>1</sup>; Bentivenha, Rafael Bestana<sup>1</sup>

Tutores: Masaguer, Alberto<sup>2</sup>; Diezma-Iglesias, Belén<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Becario CNPq/Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

<sup>3</sup>Departamento Ingeniería Agroforesta. Grupo LPF\_TAGRALIA. Universidad Politécnica de Madrid  
henriquevasq@gmail.com y bentivenha@gmail.com.

### RESUMEN

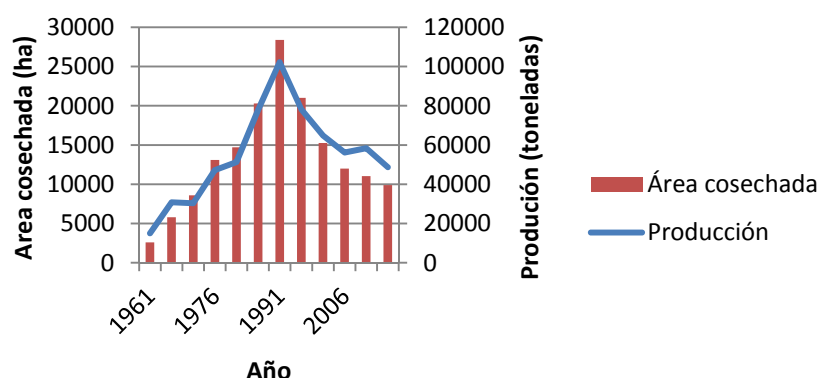
El espárrago (*Asparagus officinalis* L.) es una planta que se cultiva tradicionalmente, siendo considerada en ciertos periodos, como un cultivo con alto retorno económico. Sin embargo, los costes de producción han ido aumentando. Un problema muy común en los semilleros de espárrago es la fragilidad del cepellón. Además, en el momento de trasplante de plántulas de espárrago, sus raíces no se encuentran totalmente desarrolladas y, por ello, se rompen fácilmente. El objetivo general de este trabajo es verificar los desafíos en el desarrollo de nuevos sustratos para el cultivo del espárrago. Para ello, se han realizado ensayos preliminares en laboratorio con productos comerciales aglomerantes que no dañan el medio ambiente, con el objetivo de mejorar las características de resistencia del cepellón. Los resultados muestran que hay un cambio en la compactación del cepellón. Complementariamente, se busca el desarrollo de un método objetivo para la determinación de las características mecánicas del sustrato, para que sea posible la comparación de los tratamientos.

**Palabras clave:** *Asparagus officinalis*, compactación, sustrato

### INTRODUCCION

El espárrago (*Asparagus officinalis* L.) es una hortaliza monocotiledónea perteneciente a la familia Liliaceae. Es perenne y es consumida tanto en verde como en blanco. Existen plantas masculinas, plantas femeninas y plantas andromonoicas. Puede alcanzar 3 m de altura. El sistema subterráneo está dividido en raíces principales y secundarias. Las raíces principales son cilíndricas, no se ramifican y no se regeneran. Su función es almacenar sustancias para la nutrición de la planta. Las raíces secundarias se desarrollan sobre la principal. Es responsable de la absorción de nutrientes y del agua (Gonzales Benavente-García et al, 1993; Pérez & Rincón, 1992).

Actualmente, según datos de FAO (2013), en España se ha ido reduciendo la producción de espárrago desde 1991, cuando cosechó más de 100.000 toneladas de esta hortaliza (Figura 1). En 2013 se cosechó un total de 48.700 toneladas, lo que representa casi 20% de la producción europea, detrás solamente de Alemania (Tabla 1).

**Figura 1. Producción de Espárrago en España (FAO, 2013)****Tabla 1. Producción de Espárrago en Europa (FAO, 2013)**

|             | Producción (en toneladas) | %      |
|-------------|---------------------------|--------|
| Alemania    | 103107,00                 | 41,34  |
| España      | 48700,00                  | 19,52  |
| Italia      | 26584,00                  | 10,66  |
| Francia     | 18637,20                  | 7,47   |
| Holanda     | 16000,00                  | 6,41   |
| Grecia      | 10300,00                  | 4,13   |
| Bulgaria    | 6314,00                   | 2,53   |
| Reino Unido | 4920,00                   | 1,97   |
| Otros       | 14872,48                  | 5,96   |
|             | 249434,68                 | 100,00 |

Generalmente la producción de plántulas para trasplantar se suele hacer con híbridos para que obtener un cultivo uniforme. Los productores de espárrago suelen tener su propio semillero. Una vez sembrado, la plántula se trasplanta al alcanzar una altura determinada. La siembra se realiza en una bandeja y luego se suele poner en una cámara climática para disminuir el tiempo de germinación, en la que se mantiene temperatura y humedad constante hasta el pre germinado, que es indicado por la emisión de una plúmula aislada. Después se traslada a un invernadero, donde se realizarán los riegos, fertilizantes y tratamientos fitosanitarios adecuados hasta que esté lista para la plantación en terreno definitivo (Gonzales Benavente-García et al, 1993; Pérez & Rincón, 1992).

Durante el trasplante de las plántulas las raíces, que son pivotantes y muy frágiles, se suelen romper. Una de las formas de proteger sus raíces es aumentar la compactación de los sustratos del cultivo. Existen productos, sintéticos y naturales, que buscan mejorar la estructura del suelo con distintas finalidades como, por ejemplo, la disminución de la pérdida del suelo debido a la escorrentía.

El objetivo de este trabajo es verificar si se produce la mejora de la compactación de un sustrato de turba rubia mediante la adición de diferentes productos aglomerantes para la protección de las raíces del espárrago y, de esa manera, evitar pérdidas durante el trasplante.



## METODOLOGÍA

Se han hecho ensayos preliminares para identificar el aglomerante más adecuado a los objetivos perseguidos y en qué proporción. Se ha estudiado un estabilizante sintético (ES) y otro orgánico (EO), hecho de endospermo de semillas puras naturales. Los dos productos son utilizados en hidrosiembra y forman una capa superficial en el sustrato.

Los productos fueran disueltos en agua de grifo a temperatura ambiente, con agitadores magnéticos, siguiendo las especificaciones técnicas del producto.

El estabilizante sintético fue disuelto en las siguientes concentraciones: a) 0,1% ES; b) 0,5% ES; c) 1% ES y d) 2% ES. El estabilizante orgánico fue disuelto en las concentraciones: a) 2% EO; b) 3% EO; c) 4% EO y d) 5% EO. Además, se trabajó con una mezcla de turba rubia (TR) y turba negra (TN) en la proporción 20% TR /80% TN (Tabla 2). En cada alveolo se aplicó 20 ml de las disoluciones de aglomerantes con una pipeta de 5 ml en 3 aplicaciones: a) 10 ml; b) 5 ml y; c) 5ml. También se ensayó un testigo, donde solamente se aplicó agua. Se realizaron 16 repeticiones de cada tratamiento.

Además, en los mejores tratamientos *a priori* se hizo un test del desarrollo del vegetal en cada uno de ellos. La evaluación de la elasticidad del sustrato fue medida a través de una máquina universal de ensayo Texture-Analyzer, como el descrito por Diezma-Iglesias (2007), aplicando una deformación de 5 mm a los cepellones utilizando una esfera y un plano inclinado desarrollado con el mismo ángulo del cepellón.

**Tabla 2. Tratamientos planteados**

| Tratamiento | Concentración               | Sembrado |
|-------------|-----------------------------|----------|
| 1           | Testigo (100% TR, con agua) | NO       |
| 2           | 0,1% ES                     | NO       |
| 3           | 0,5% ES                     | NO       |
| 4           | 1% ES                       | NO       |
| 5           | 2% ES                       | NO       |
| 6           | 2% EO                       | NO       |
| 7           | 3% EO                       | NO       |
| 8           | 4% EO                       | NO       |
| 9           | 5% EO                       | NO       |
| 10          | 20% TR/ 80% TN              | NO       |
| 11          | Testigo (100% TR, con agua) | SÍ       |
| 12          | 2% EO                       | SÍ       |
| 13          | 3% EO                       | SÍ       |
| 14          | 4% EO                       | SÍ       |
| 15          | 5% EO                       | SÍ       |
| 16          | 20% TR/ 80% TN              | SÍ       |

— ES: estabilizante sintético; EO: estabilizante orgánico; TR: turba rubia; TN: Turba negra.

## RESULTADOS Y DISCUSION

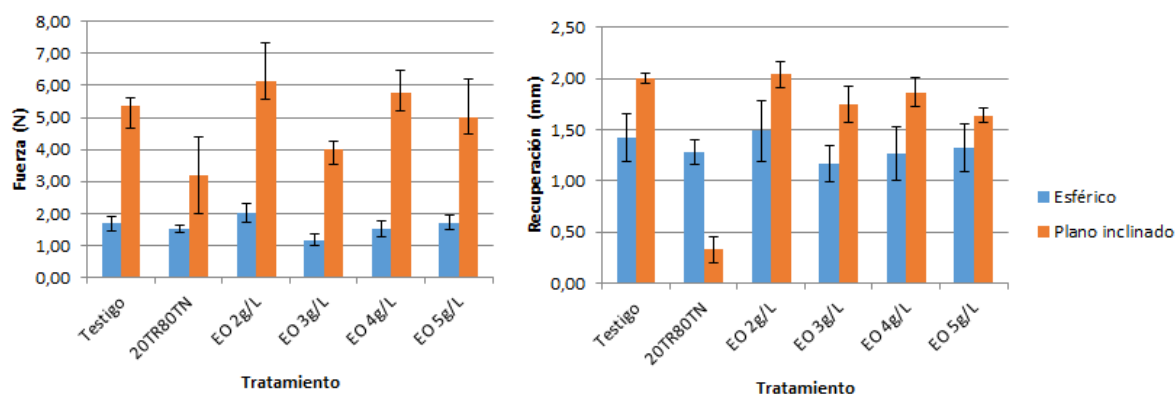
En lo que refiere al producto sintético, su disolución resultó de difícil manejo. El producto, incluso en las concentraciones indicadas en la norma técnica, se convertía en gelatina y



no se absorbía bien por el suelo. Por ello se dio preferencia al producto natural, descartando el producto sintético de los ensayos de caracterización mecánica (Texture Analyzer).

En los ensayos de compresión mediante contacto esférico y plano inclinado, aunque en un principio se percibió una diferencia cualitativa entre los distintos tratamientos, los resultados estadísticos muestran que, en las condiciones de este experimento, no hubo diferencia en relación a la fuerza de reacción ejercida por el cepellón ni a su recuperación (Figuras 2 y 3).

**Figuras 2 y 3. Fuerza de reacción y recuperación del cepellón**



La mejora de estabilidad del sustrato se produjo solamente en su parte superior, con la formación de una capa, que disminuyó la velocidad de entrada de agua en el mismo. Por ello, se entiende que además de la concentración del producto en el sustrato se debe tener en cuenta el procedimiento mediante el que éste es añadido al suelo.

## CONCLUSIONES

La utilización del Texture Analyzer, equipo generalmente utilizada para la determinación de las características texturales y reológicas en productos alimentarios, se muestra eficaz, pero son necesarias nuevas adaptaciones a esta máquina con la finalidad de estandarizar más los parámetros, visto que el cepellón son muestras muy irregulares debido al formato del alvéolo.

El producto sintético no ha mostrado una buena disolución y eso influyó en una mala distribución en el sustrato. El producto orgánico presenta una mejor disolución, sin embargo su dispersión por el suelo no ha sido homogénea. Por ello, nuevas técnicas para su aplicación en el sustrato deben ser investigadas.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al CNPq – Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico de Brasil por la beca de intercambio, a los profesores Alberto Rodrigues Masaguer y Belén Diezma-Iglesias por la tutoría y a todo el personal de los laboratorios que nos ayudaron en el trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Diezma-Iglesias, B., García-Rebollar, P., Ruiz-Altisent, M., Álvarez-Carro, C. 2007. Span. J. Agric. Res. v. 5. 296-303.
- FAO. 2013. FAOSTAT. Recuperado en 14 de 03 de 2015, disponible en <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>
- Gonzales Benavente-García, A., Fernandez Hernandez, J. A., Bañon Arias, S., 1993. Cultivo Del Espárrago Verde En Invernadero. Madrid: S.A. Mundi-Prensa Libros. 185p.
- Pérez, J. L., & Rincón, A. R., 1992. Espárrago Blanco: Técnicas de Producción. Extremadura: Editora Regional de Extremadura. 162p.



## BÚSQUEDA DE ALTERNATIVAS SOSTENIBLES DE RESIDUOS DE COCINA Y RESTOS VEGETALES CON FINES AGRÍCOLAS

Vasque, Henrique<sup>1</sup>; Bentivenha, Rafael Bestana<sup>1</sup>; Silva, Stefany C.M.<sup>2</sup>

Tutor: Masaguer, Alberto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Becario CNPq/Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Biociencias de Botucatu. Universidad Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

<sup>3</sup>Departamento de Producción Agraria. ETSIAAB. Universidad Politécnica de Madrid.

Correo electrónico: henriquevasq@gmail.com, bentivenha@gmail.com, ste.cristina1@gmail.com y alberto.masaguer@upm.es

### RESUMEN

Los residuos generados en la actividad de una cocina doméstica, como materiales orgánicos y cáscaras de frutas son a menudo eliminados en basuras comunes. La acumulación de estos restos de alimentos puede llegar a constituir muchas veces un efecto negativo para el medio ambiente. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de inhibición o estímulo en la germinación y en el desarrollo de una planta, causado por la liberación de compuestos orgánicos presentes en los extractos de los residuos estudiados. El experimento fue realizado en el Departamento de Horticultura, de la Universidad Estadual Júlio de Mesquita Filho, en el municipio de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil, en el mes de mayo de 2014. Fue evaluado el porcentaje de germinación, índice de velocidad de germinación, longitud de la parte aérea y de la raíz de la plántula. Los resultados pueden contribuir al estudio de la viabilidad de alternativas para la valorización de estos residuos buscando un uso sostenible de los mismos.

**Palabras clave:** Alelopatía, germinación, residuos orgánicos

### INTRODUCCION

Uno de los temas preocupantes en nuestra sociedad actual es el incremento y acumulación de residuos domésticos procedentes de cocinas, los cuales además de ser una deficiente gestión de los alimentos afecta al medio ambiente llevando a la utilización no sostenible de los recursos naturales.

Según datos obtenidos en la Comisión Europea (2010), cerca de 1.300 millones de toneladas al año de los alimentos producidos para el consumo humano son tirados a la basura y además, cerca de un 40% se producen en los domicilios. Concretamente Europa desperdicia cerca de 89 millones de toneladas de alimentos anuales, siendo España el sexto país con 7,7 millones de toneladas. Estos datos, indican la necesidad de gestionar estos residuos, con usos más alternativos y valorizarlos de manera más sostenible.

Estudios como el de Faroleco (2013), han propuesto usos para estos materiales, como por ejemplo, la aplicación de la borra de café como abono orgánico el cual suministra nutrientes para las plantas como nitrógeno, potasio y fósforo. Coelho (2011), resalta que en las cáscaras de naranja hay presencia de compuestos secundarios como los monoterpenos y linalol, empleados en industrias de alimento, cosméticos y perfumes. Además, Stulp et al. (2011), constató una acción inhibidora del referido aceite, sobre la germinación de semillas de trigo.

Por su parte Francelli (2003), al analizar hojas de platanera, constató la presencia de compuestos con acción antibacteriana y pesticida.



Esas son algunas de las consideraciones a tener en cuenta para evitar la contaminación del medio ambiente y dar valor añadido a la gestión de los residuos considerados.

El objetivo del presente trabajo ha sido analizar el potencial alelopático de algunos de los materiales de la basura doméstica, como la cáscara de naranja, la borra de café y hojas de platanera en la germinación y desarrollo de las plántulas de lechuga.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Departamento de Horticultura, de la Universidad Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, en el municipio de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil, en el mes de mayo de 2014.

Para la elaboración del extracto de hojas de platanera, se añadió 100 g de sus hojas frescas en 1 litro de agua destilada en una licuadora, donde se ha sido triturado por 5 minutos. Posteriormente, fue separado las partes sólidas y líquidas a través de un proceso de filtrado (papel filtro Whatman 1).

Para la borra de café, se añadieron 100 g de este material seco al ambiente en 1 litro de agua destilada hervida y agitada durante 5 minutos.

En cuanto al extracto de cáscara de naranja se obtuvo por medio de infusión, donde se utilizaron 100 g de este material en 1 litro de agua destilada y hervida, posteriormente reposada durante 5 minutos.

Partiéndose de los extractos y de la infusión, fueron efectuadas diluciones con agua destilada en las proporciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Además, se hizo un testigo con agua destilada.

Los ensayos de germinación fueron realizado con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) debido a que en pruebas preliminares, mostraron que este material presentó buena respuesta en los parámetros de germinación y adaptación a un amplio rango de pH y potencial osmótico (Formagio et al., 2010).

Los ensayos se realizaron en placas de Petri con papel de filtro, añadiéndose 25 semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) por replica, en un total de 4 por tratamiento, donde se humedeció con 8 mL de los extractos o de agua destilada en el testigo. Todos los tratamientos fueron mantenidos a 20°C, en fotoperiodo de 12h de luz y 12h de oscuridad. Después de 14 días de incubación las mediciones fueron realizadas.

Las variables analizadas fueron: porcentaje de germinación (PG), índice de velocidad germinación (IVG) (semillas germinadas/día), longitud de la parte aérea (LPA) (cm) y longitud de la radícula (LR) (cm). La determinación del índice de velocidad de la germinación fue hecha conforme con Maguire (1962),

$$IVG = G_1 / N_1 + G_2 / N_2 + G_3 / N_3 + \dots + G_n / N_n$$

Dónde:

$G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$  = número de semillas germinadas en el día de la observación, hasta el último día de incubación.

$N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$  = número de días transcurridos desde la siembra.





## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 y figura 1 se muestran los resultados obtenidos sobre la germinación y crecimiento de plántulas los extractos de los diferentes residuos. En relación a la borra de café, se observó un mayor índice de velocidad de germinación de las plántulas del extracto acuoso al 75 y 100% respecto al testigo. Este resultado coincide con los de Brito (2008) que indica presencia de compuestos favorables para uso agrícola, promoviendo el aumento exponencial del área foliar y de botones florales en café. También Andrade et al. (2009) describen la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, polifenoles, además de la cafeína, pueden estar asociados con el estímulo en el desarrollo de la plántula.

En cuanto a la cáscara de naranja, los extractos 50, 75 y 100% presentan porcentajes de germinación más bajos que el resto de tratamientos y el testigo. Además, al 100% disminuye la longitud de la raíz respecto a los otros residuos y al testigo. En estudios de Ribeiro (2012), utilizando aceite esencial de la cáscara de la naranja (*Citrus sinensis* L.), se evidenció también un potencial alelopático de inhibición en la germinación de semillas de mostarda (*Brassica juncea* L.), brócoli y berza.

En los extractos de hoja de platanera en la concentración de 100%, se obtuvo mayor longitud de la parte aérea y de la raíz, además mejor desarrollo de plántula en relación al testigo. También mayor índice de velocidad de germinación al 100% que al 25%. Al 75% hubo mejor índice de velocidad de germinación que al testigo. El efecto estimulante de este extracto, puede estar asociado a la acción de metabolitos presentes en la hoja. Sin embargo, los datos son escasos en la literatura en lo que se refiere a su aplicación alelopática y sus características. Se sabe que contienen principalmente taninos y flavonoides (Oliveira, 2010) y también enzimas lignocelulolíticas (Soffner, 2006).

**Tabla 1. Resultados estadísticos de los tratamientos**

| Tratamientos              | PG (%) | IVG<br>(semillas<br>germinadas/día) |           |         |
|---------------------------|--------|-------------------------------------|-----------|---------|
|                           |        | LPA (cm)                            | LR (cm)   |         |
| <b>Testigo</b>            | 97 a   | 9,45 cde                            | 0,71 cd   | 2,51 bc |
| <b>Borra de café</b>      |        |                                     |           |         |
| 25%                       | 96 a   | 12,18 abc                           | 1,18 bcd  | 3,73 ab |
| 50%                       | 98 a   | 13,13 abc                           | 1,42 abc  | 4,22 ab |
| 75%                       | 95 a   | 15,11 a                             | 1,19 bcd  | 3,51 ab |
| 100%                      | 93 a   | 13,62 ab                            | 1,34 abcd | 3,89 ab |
| <b>Cáscara de naranja</b> |        |                                     |           |         |
| 25%                       | 88 a   | 7,38 de                             | 0,77 cd   | 0,94 cd |
| 50%                       | 72 b   | 7,01 de                             | 0,75 cd   | 1,44 cd |
| 75%                       | 68 b   | 6,08 e                              | 0,52 cd   | 0,95 cd |
| 100%                      | 66 b   | 5,93 e                              | 0,41 d    | 0,44 d  |
| <b>Hojas de platanera</b> |        |                                     |           |         |
| 25%                       | 99 a   | 10,81 bcd                           | 1,81 ab   | 4,45 ab |
| 50%                       | 96 a   | 13,12 abc                           | 1,45 abc  | 3,98 ab |
| 75%                       | 97 a   | 13,57 ab                            | 1,53 abc  | 4,37 ab |
| 100%                      | 98 a   | 15,49 a                             | 2,31 a    | 5,47 a  |

Porcentaje de germinación (PG), índice de velocidad de germinación (IVG), longitud de la parte aérea (LPA) y longitud de la radícula (LR) de semillas de lechuga sometidas a tratamientos alelopáticos con infusión de cáscara de naranja y extractos de hojas de platanera y borra de café. **Las medias seguidas de por lo menos una misma letra minúscula en la columna, no difieren significativamente entre sí por la prueba de Tukey a 5%.**

**Figura 1. Altura de las plántulas**

Figura 1.: Cáscara de naranja (L) y extracto de hojas de platanera (B) en relación al testigo (testemunha)

## CONCLUSIONES

***En general, los materiales analizados en el trabajo constituyen alternativas interesantes en el uso de estos residuos como mejoradores de suelo. En concreto, las hojas de platanera aportan mayor velocidad de germinación e incrementa el desarrollo aéreo y de la raíz, parámetro importante en los semilleros.***

## AGRADECIMIENTOS

Al CNPq – Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico de Brasil por la beca de Intercambio, Departamento de Horticultura, de la Universidad Estadual Júlio de Mesquita Filho, al profesor Alberto Masaguer por la tutoría y a todo el personal de los laboratorios que nos ayudaron en el trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, A.P.S.; Melo, P.G.; Aquino, F.J.T.; Chang, R.; Morais, S.A.L.; Santos, D.Q., Hernandez-Terrones, M. G., 2009. In: XXXII Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Química.
- Brito, M., 2008. Disertación (Máster) Universidade Tiradentes, Aracaju. 124.
- Coelho, S. 2011. Recuperado en: 05 de febrero de 2015, disponible en: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAfKcwAK/extracao-oleos-essenciais-casca-laranja>.
- Comisión Europea y Bio Intelligence Service, 2010. Recuperado en: 18 de febrero de 2015, disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/74327/icode>.
- Faroleco, 2013. Recuperado en: 21 de febrero de 2015, disponible en: <http://faroleco.blogspot.com.br/2013/02/borras-de-cafe.html>.
- Formagio, A. S. N.; Masetto, T. E.; Baldivia, D. S.; Vieira, M. C.; Zárate, N. A. H.; Pereira, Z. V., 2010. Revista Brasileira de Biociências, 8: 349-354
- Francelli, M. 2013. Embrapa, Sistema de produção. Recuperado en: 25 de febrero de 2015, disponível en: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaAmazona>
- Maguire, J. D. 1962. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177.
- Oliveira N., Duarte R., Nogueira F., Silva, R., Faria F., Geraseev L. 2010. Ciência Rural, 40:488-490.
- Ribeiro J., Lima M. 2012. Acta Bot. Bras., 26: 1-2.
- Soffner M. 2006. Disertación (Máster) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 56.
- Stülp J., Battistu A., Istchuk A., Müller M., Mioranza T., Kuhn J. 2011. Cadernos de Agroecologia, 6:2-3.



## RESPUESTA DEL OLIVAR EN SETO (CV. ARBEQUINA) AL RIEGO DEFICITARIO CONTROLADO (RDC) DURANTE LA FASE DE SÍNTESIS DE ACEITE

Rodríguez, Héctor<sup>1</sup>;

Tutor: Gómez del Campo, María<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Agraria. E.U.I.T. Agrícola. Universidad Politécnica de Madrid

### RESUMEN

En este trabajo se evaluaron cuatro estrategias de riego deficitario controlado (RDC) en olivar en seto de la variedad Arbequina durante el periodo de síntesis de aceite, desde agosto hasta recolección. El objetivo es establecer los umbrales de estrés hídrico que se pueden alcanzar sin afectar la producción ni la calidad de la cosecha. Los ensayos fueron realizados en dos olivares adultos, con un marco de plantación 4x2m y 1250 árboles/ha. Se aplicaron cuatro estrategias de riego: T1=riego a capacidad de campo. T2=65%T1. T3=40%T1. T4=12%T1. Se determinó la producción de aceituna y de aceite. Se midió el potencial hídrico de los árboles para determinar su nivel de estrés hídrico, llegando a valores de -6 MPa para T4. Los resultados mostraron que aplicando el riego cuando se alcanza un potencial hídrico no inferior a -2.5MPa durante éste periodo, no provoca disminución en la producción.

**Palabras clave:** RDC, estrés hídrico, arbequina.

### INTRODUCCION

El olivo (*Olea europea* L.) es una planta mediterránea resistente a la sequía, tradicionalmente cultivada en secano con baja densidad de plantación. Sin embargo responde positivamente a la aplicación de riego (Ruiz-Sánchez et al., 2010). Las plantaciones superintensivas buscan maximizar los rendimientos y minimizar los costes. Las estrategias de riego deficitario controlado (RDC) son importantes para optimizar el manejo. Muchos investigadores señalan la importancia de reducir aportes de agua durante periodos fenológicos que no afecten a la producción y calidad de la cosecha (Tognetti et al. 2006). No obstante, el periodo de síntesis de aceite se considera especialmente sensible a la falta de agua, ya que afecta directamente la productividad del olivar (Moriani et al., 2012, Gómez-del-Campo, 2013a y b).

En este trabajo se estudian cuatro estrategias de riego deficitario controlado en olivar en seto de la variedad Arbequina durante el periodo de síntesis de aceite, desde agosto hasta recolección, con el fin de determinar el nivel de estrés hídrico que se puede aplicar en ese periodo sin afectar la producción.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo está situado en la finca “Casa de Hualdo” ubicada en La Puebla de Montalbán, Toledo (39° 48' N; 04° 27'W; 516 m s.n.m.). El área del estudio se caracteriza por una baja precipitación (395 mm), alta demanda evaporativa (1180 mm) y largo periodo de heladas.

Los ensayos fueron realizados en dos olivares situados en la finca mencionada anteriormente, de la variedad Arbequina, con un marco de plantación de 4x2 m; “Cantarranas”, plantado en 1997, y “Las Cañas”, en 2001. Dichas parcelas son diferentes en cuanto al suelo, en “Las Cañas”, el suelo tiene una profundidad efectiva de enraizamiento de 0.60 m, y su textura es franco-arcillosa hasta 0.4 m de profundidad y franco-arcillo-arenosa de 0.4 a 0.6 m. Por otro lado en “Cantarranas” el suelo presenta una profundidad efectiva de enraizamiento de 0.8 m, y su textura es franco-arcillo-arenosa hasta 0.2 m de profundidad y arcillo-arenosa de 0.2 a 0.8 m.



El año en el que se llevó a cabo el ensayo se caracterizó por la ausencia de lluvias en agosto y las lluvias escasas y tardías en el mes de septiembre. Sin embargo en octubre se produjeron abundantes lluvias en comparación con años anteriores.

Se establecieron distintas dosis de riego en dichas parcelas de olivar para posteriormente evaluar la producción de la campaña 2013, y posteriormente de la 2014.

Las cuatro estrategias de riego aplicadas en la parcela del ensayo son las siguientes:

- T1 = bulbo de humedad durante todo el periodo de riego a capacidad de campo. Tratamiento de control.
- T2 = Se riega un 65% del tratamiento T1.
- T3 = Se riega un 40% del tratamiento T1.
- T4 = Se riega un 12% del tratamiento T1.

Los tratamientos se dispusieron en 4 bloques al azar en cada parcela, con 3 olivos de muestreo por cada bloque.

Se midió el estrés hídrico quincenalmente a partir del potencial hídrico de tallo, la primera medición comenzó el 22 de agosto y la última fue el 21 de octubre. En total se realizaron cinco mediciones. Las mediciones fueron realizadas a mediodía con una cámara de presión tipo Scholander (Soil Moisture Equipment Corp., Santa Bárbara, CA, USA). Cada día de medida se seleccionaron cuatro hojas por tratamiento, formadas ese año y situadas a una altura de 1.5 m respecto al suelo, y se cubrieron con una bolsa de aluminio al menos una hora antes de la medida. A partir de los valores de potencial hídrico del tronco quincenales se calculó un valor medio ponderado del periodo de ensayo por tratamiento, considerando los días transcurridos entre medidas consecutivas.

La aceituna de cada árbol de control se cosechó el 18 de octubre de 2013 para la parcela “Las Cañas” y el 21 de octubre para “Cantarranas”; y se pesó para obtener la producción (kg de aceituna y los kg de aceite). También se recogieron muestras de cada árbol de control para evaluar las características de la aceituna, estas muestras fueron preparadas en el Laboratorio de Producción Agraria de la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola. Dichas muestras recogidas se secaron en la estufa, durante 48 horas a una temperatura superior a 100 °C. Posteriormente se analizaron por medio de una máquina de resonancia magnética nuclear, con lo que fue posible la evaluación de parámetros tales como: peso fresco y el peso seco por aceituna, el aceite por aceituna, la relación entre el peso fresco y seco con el rendimiento graso.

Para obtener producción de aceite, se extrajeron 16 muestras de aceite, 4 muestras por tratamiento, con el instrumento Abencor, situado en dicha escuela.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la parcela de “Las Cañas” (Tabla 1) se obtuvieron valores de potencial hídrico de -4MPa para el tratamiento 4 (Figura 1). En octubre debido a las lluvias otoñales, las diferencias entre tratamientos en cuanto a potenciales hídricos disminuyeron. En lo referente a la producción de aceituna (Tabla 1), tras el análisis estadístico de los datos no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. En contra posición estas diferencias fueron significativamente diferentes entre los tratamientos de riego en la producción de aceite. “Las Cañas” como se indica anteriormente, tiene un suelo arcilloso profundo, el cual retuvo las lluvias caídas en otoño, que igualó los tratamientos en la última fase del ensayo (Figura 1).



Sin embargo, para la parcela de “Cantarranas” (Tabla 2), donde el suelo es poco profundo y más arenoso, y en el cual se alcanzaron potenciales hídricos de hasta  $-6.0$  MPa para el tratamiento 4 (figura 2), se observó tras el análisis de los datos de producción de aceituna que el tratamiento 4 fue significativamente diferente. En cuanto a la producción de aceite, el tratamiento 1 fue el más productivo, mientras que los tratamientos 3 y 4 mostraron un mismo comportamiento.

A la vista de los resultados obtenidos (Tabla 1 y 2), se observa que la producción de aceituna fue significativamente diferente para el tratamiento 4 en ambas parcelas objeto del estudio. Sin embargo la producción de aceite muestra que el tratamiento 1 fue el más productivo, mientras que los tratamientos 3 y 4 fueron los que menos producción tuvieron.

En la figura 3, se muestra la relación entre los potenciales hídricos y la producción de aceite. En ella que se observa cómo la producción aumenta hasta alcanzar valores de  $-2.5$  MPa. Para potenciales hídricos superiores no se obtiene un aumento en la producción.

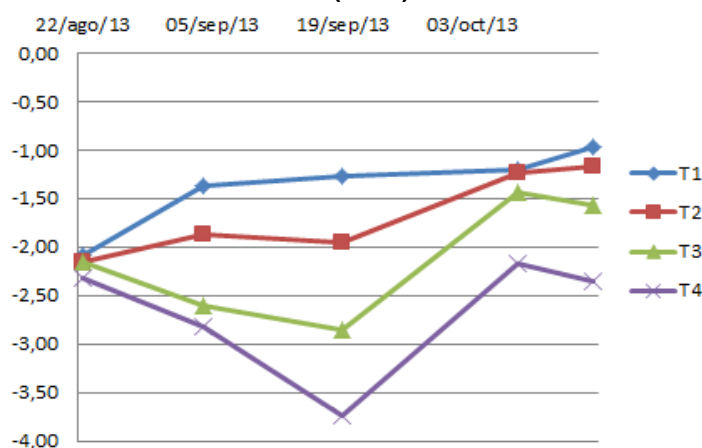
**Tabla 1. Producción de aceituna y aceite de “Las Cañas”.**

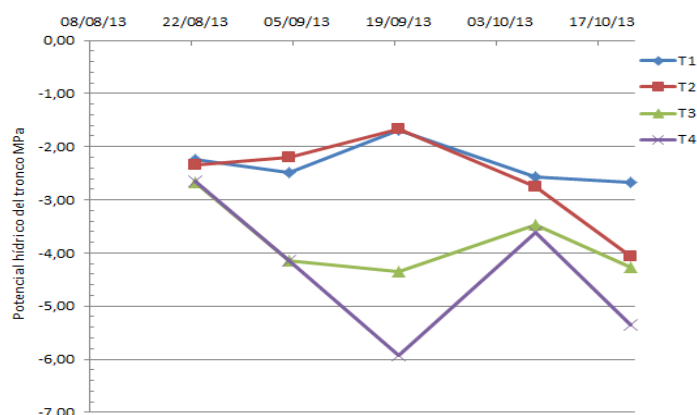
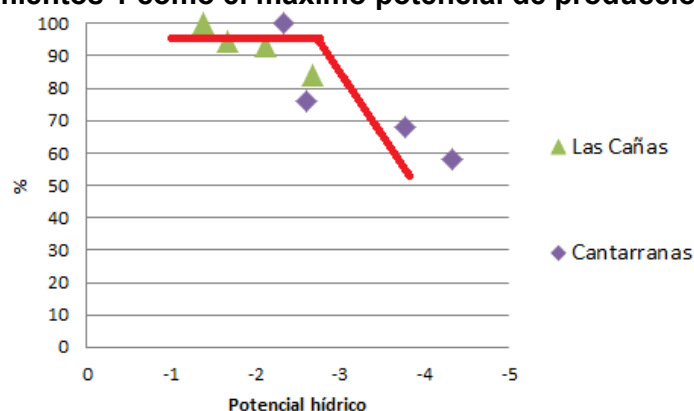
|               | Prod. Kg<br>aceituna/ha | Prod. Kg<br>aceite/ha |
|---------------|-------------------------|-----------------------|
| Tratamiento 1 | 15957                   | 2163a                 |
| Tratamiento 2 | 14553                   | 2042b                 |
| Tratamiento 3 | 14187                   | 2014c                 |
| Tratamiento 4 | 11795                   | 1820c                 |

**Tabla 2. Producción de aceituna y aceite de “Cantarranas”.**

|               | Prod. Kg<br>aceituna/ha | Prod. Kg<br>aceite/ha |
|---------------|-------------------------|-----------------------|
| Tratamiento 1 | 13867,90a               | 2275,99a              |
| Tratamiento 2 | 10177,19a               | 1729,47b              |
| Tratamiento 3 | 9175,64a                | 1551,86c              |
| Tratamiento 4 | 9078,10b                | 1319,46c              |

**Figura 1. Potenciales hídricos (MPa) alcanzados en “Las Cañas”.**



**Figura 2. Potenciales hídricos (MPa) alcanzados en “Cantarranas”.****Figura 3. Relación producción aceite (%) y potencial hídrico (MPa). Estableciendo los tratamientos 1 como el máximo potencial de producción (100%).**

## CONCLUSIONES

Al comparar los potenciales hídricos alcanzados con las producciones obtenidas, se establece que un estrés hídrico, no inferior a -2.5 MPa durante el periodo de síntesis de aceite, no provoca en el cultivo un descenso en la producción de aceite, no es así respecto a los kg de aceituna, debido al mayor contenido en agua de los frutos, con lo que estableciendo una estrategia de riego deficitario adecuada se podrían abaratar los costes de recolección, aparte del consiguiente ahorro de agua de riego.

## AGRADECIMIENTOS

Finca “Casas de Hualdo”, por ceder el terreno para el ensayo; CEIGRAM, por concederme su premio a la realización del TFG; María Gómez del Campo, por su apoyo y entrega como tutora del proyecto; Eduardo Trentacoste, por la incalculable ayuda prestada.

## BIBLIOGRAFÍA

- Gómez-del-Campo, M. (2013a). Summer deficit-irrigation strategies in a hedgerow olive orchard cv. ‘Arbequina’: effect on fruit characteristics and yield. *Irrigation Science* 31, 259-269.
- Gómez-del-Campo, M. (2013b). Summer deficit irrigation strategies in a hedgerow olive orchard cv. ‘Arbequina’: relationship between soil and tree water status, and growth and yield components. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11, (pendiente de paginado).
- Moriana, A., Pérez-López, D., Prieto, M.H., Ramírez-Santa-Pau, M., Pérez-Rodríguez, J.M. (2012). Midday stem water potential as a useful tool for estimating irrigation requirements in olive trees. *Agricultural Water Management* 112, 43-54.
- Ruiz-Sánchez, M.C., Domingo, R., Castel, J.R. (2010). Review. Deficit irrigation in fruit trees and vines in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(S2), S5-S20.
- Tognetti, R., d’Andria, R., Lavini, A., Morelli, G. (2006). The effect of deficit irrigation on crop yield and vegetative development of *Olea europaea* L. (cvs. Frantoio and Leccino). *European Journal of Agronomy* 25, 356-364.



## PHOTOVOLTAIC APPLICATION IN MODERN AGRICULTURE

Huaxin Wang<sup>1</sup>; M.A. Munoz<sup>1</sup>; G.P. Moreda<sup>1</sup>;

*1 Dep. Rural Engineering. Electro-technical Section, Technical University of Madrid (UPM)*

*Avda. Complutense, s/n; 28040 Madrid, Spain*

*huaxin.wang@alumnos.upm.es Phone: +34 688558210*

### ABSTRACT

The use of photovoltaic (PV) electricity in modern agriculture has shown its advantages since the 1970s when it was possible to obtain a substantial green energy without the pollution by burning fossil fuels (coal, oil or natural gas) or the threaten of nuclear accident. Due to the price descent of the PV system, some new applications are becoming economically attractive, like the combination of PV and agriculture. Meanwhile, the use of agricultural soils contributes to making photovoltaic a low-cost energy generation source. Briefly, this combination can be a standby power or a direct injection to grid that is applied in a wide range of modern farming: irrigation, greenhouses and agricultural machinery. Therefore, the main aim of this study is to introduce these various applications of photovoltaics in modern agriculture.

**Key words:** *Solar energy, agriculture, PV, solar water pump*

### INTRODUCTION

Since the birth of agriculture, it is closely bound up with sun or solar energy. And even long before the ancient human activities in agriculture, the nature has “processed” solar energy for billion years: plants and other photosynthetic organisms (e.g. phytoplankton) convert solar energy to food, which is the primary food resource.

However, agriculture activities were limited to the utilization of solar thermal energy until the first practical photovoltaic cell was publicly demonstrated on 25 April 1954 at Bell laboratories. The photovoltaic technology (PV), using photovoltaic cell converts solar energy to electricity in two steps: an electron-hole pair is generated once the cell absorbs light; and then, due to the structure of the device, the electronic and the hole are separated: the former to the negative terminal and the latter to the positive terminal (Tom Markvart, Luis Castañer).

Farmers have a profound emotion to the land, and they are willing to invest in renewable energy to protect the land, air and water from pollution, greenhouse gases (GHGS). PV technology supplies them a good alternative. In recent years, there is an emerging combination between agriculture and photovoltaic named agro photovoltaic (APV). This conception was promoted since 1980s and researchers have identified there is enough radiation underneath PV arrays to permit cultivation of many different crops (Goetz Berger A., Zastrow A.).

From the late 1960s, the U.S.S.R. started to install a variety of PV systems, ranging in capacity from 1 to 500 watts output for irrigation pumps, water gates, communication equipment and light buoy on waterways in its remote, semi-arid southeastern areas (H.S.Rauschenbach).

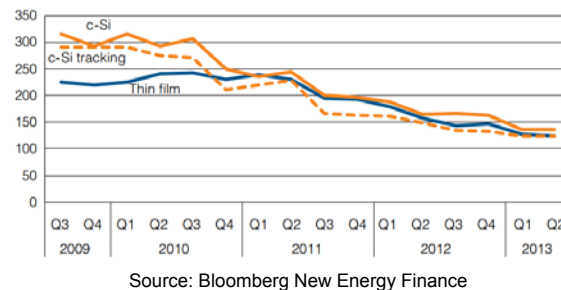
The 1970s energy crisis forced U.S. to found the U.S. Department of Energy with increasing funds, which applied much work to make large-scale PV utilization economically feasible. In 1977, an experimental PV plant system was completed that operated seasonally to power irrigation pumps, grain drying fans and other equipment (M.D. Pope et al.).

Solar energy is also an important part of energy structure of developing country now. As of 2000, there were more than 20000 water pumps are powered by PV notably in India, Ethiopia, Thailand, Mali, Philippines, and Morocco (Eric Martinot, Akanksha Chaurey).



Solar photovoltaic is experiencing a reduction in costs because of Feed-in tariffs (Fig1), contrary to the rising trend in the prices of electricity, oil and other fossil fuels. For the high-energy dependence area, especially in agriculture, like Spain, photovoltaic can efficiently relieve this plight without conventional resource.

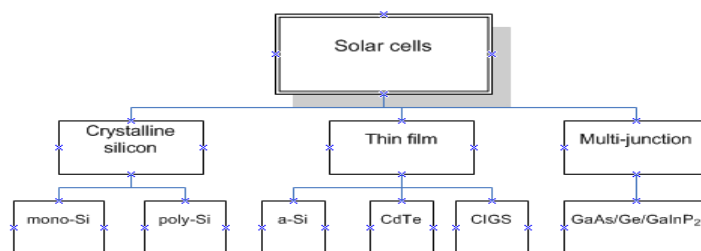
**Fig.1. Levelized cost of PV electricity over time, developed market average (USD/MWh)**



## SOLAR CELLS CLASSIFICATION

Solar cells or photovoltaic cells are often named as an abbreviation of the semi conducting material they are made of (e.g. CdTe is the abbreviation of Cadmium Telluride). And according to the material, solar cells can be classified by three types: the first group is made of crystalline silicon, including monocrystalline silicon and polysilicon, has occupied more than half of worldwide PV production; the emerging thin-film cells, which include amorphous silicon, CdTe and CIGS (Copper indium gallium selenide) and also the dye-sensitized solar cells, are commercially significant in utility-scale photovoltaic power stations, building integrated photovoltaics or in small stand-alone power system; the third group is multi-junction solar cells. Due to their high efficiency and elevated price, they were designed for space application such as satellites and space exploration. However, now they are more and more applied in terrestrial concentrated photovoltaic (CPV). Because of lenses or curved mirrors with the high concentrate ratio, their efficiency can reach as high as 40% or more. The three groups of solar cells are illustrated in fig.2, and the features of commercial modules of crystalline silicon and thin film are shown in table 1.

**Fig.2. classification of solar cells**



## SOLAR-POWERED PUMP

Solar-powered pumps (or photovoltaic pumps), using PV panels to generate electricity to power pumps, are very suitable for the pumps beyond the reach of power lines or just used for remote area water supply, livestock watering and small-scale crop irrigation (S.M.Ali *et al.*). They mainly contain four parts: PV panels, controller, pump and storage device. Their working process is shown in the Fig.3: the PV panels convert solar energy into DC( directing current) electricity with the help of the controller; then one part of the DC electricity powers the pump directly, which is very common in the applications such as





garden fountains, landscaping, drinking water for livestock, or small irrigation projects; whereas the other part is either stored in a battery or converts to AC (alternating current) which is suitable for larger irrigation system by an inverter.

**Table1.Features of commercial modules of crystalline silicon and thin film**

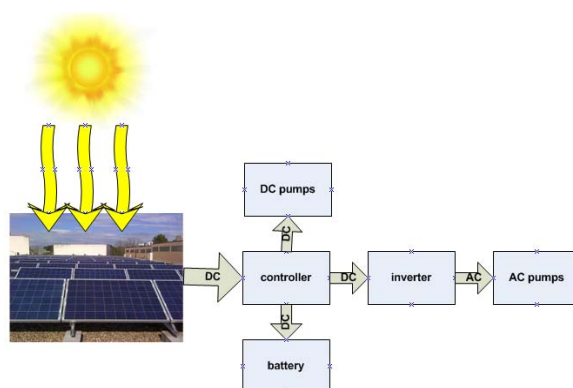
|                                      | Crystalline silicon | Thin film  |
|--------------------------------------|---------------------|--|
| Market share                         | 80%                 | Less than 20%                                    |
| Efficiency                           | 12%-20%             | 3%-11% <sup>1</sup>                              |
| Power decline                        | ~1%/year            | Initial 20%, 1%/year <sup>2</sup>                |
| Performance guaranty                 | 25-30years          | 20-25years                                       |
| Encapsulation                        | Tempered glass      | Untempered glass                                 |
| Voltage                              | Low                 | High   |
| Temperature coefficient <sup>3</sup> | ~-0.5%/K            | ~-0.2%/K   |
| Price                                | high                | low  |
| Other                                | Non-toxic           | Flexible, better performance in cloudy condition |

<sup>1</sup>Some CdTe and CaAs Thin film modules can reach the efficiencies above 20% (Martin A. Green *et al.*)

<sup>2</sup>For amorphous silicon, there is a 20% initial power decrease and followed by 1% annual decrease.

<sup>3</sup>Temperature coefficient mainly includes three types: temperature coefficient of open-circuit voltage, short-circuit current and maximum power, here refers to the temperature coefficient of maximum power

**Fig.3. Working process of solar-powered pump**



For solar-powered pumps, the polycrystalline silicon is the primary choice. Because its higher efficiency contributes to less area be occupied. On the other hand, it performs better in sunny weather when the need for water is greater, whereas thin film modules are better in cloudy weather. For instance, in china, it could create a 400GW installed capacity even only 1% of the arid area employs this solar-powered pump technology, and 1GW capacity is able to water 3000km<sup>2</sup> ~6000km<sup>2</sup> area.

## AGRO PHOTOVOLTAIC

Agro photovoltaic greenhouse integrates photovoltaic, intelligent control and modern farming (fig.4). This combination of agriculture and photovoltaic creates a new “farming inside, power generation outside” scenario: the electricity generated by the photovoltaic panels can light the greenhouse plants or even the sunshine can pass through some transparent thin film modules, and also the electricity can power the agricultural equipment like pumps, during the cold season supplies heating to the greenhouse and



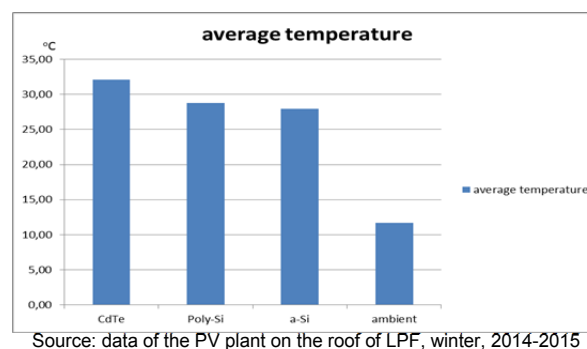
control the temperature, promotes the rapid growth of crop. In a similar way, there is also a combination of fishery and photovoltaic.

**Fig.4. Pu Dong Hua Shen photovoltaic farm, Ji Mo, Shan Dong, China**



Agro photovoltaic solves two problems simultaneously: agriculture can supply the vast farm land to photovoltaic which is an area-consuming project; in return, photovoltaic provides the essential power to agriculture. Biomass and electricity are generated at the same time (M. Beck *et al.*). Due to the vast farm land and lower cost, thin film modules can be installed as the primary choice. Additionally, PV modules do not generate electricity and also produce much heat simultaneously. As shown in graph1, the temperature is somewhat higher (20-30°C) than the ambient; it could be an additional heating source for the greenhouse.

**Graph1. Comparison of module temperature and the ambient**



## CONCLUSION

At the time of the lack of traditional fossil energy, harsh geographical conditions' requirements of wind energy and hydro energy and safety consideration of nuclear energy, PV provides an energy guaranty for modern agriculture. PV is similar to agriculture, where both are "farming" the sun: the former produces electricity and the latter results in food. The combination of PV and agriculture gives birth to plenty of applications: solar-powered pump, agro agriculture, agro fishery and so on.

## REFERENCES

- Eric Martinot, Akanksha Chaurey, 2002, Annual Review of Energy and the Environment, Vol. 27: 309-348
- Goetzberger A, Zastrow A., 1982, International Journal of Solar Energy, 1:55-69
- H.S.Rauschenbach, 1980, Solar cell array design handbook: the principles and technology of photovoltaic energy conversion, pp.: 7
- M. Beck et al., 2012, 27th European Photovoltaic Solar Energy Conference and Exhibition
- M.D. Pope, 1978, Silicon Technology Programs, pp.: 165
- Martin A. Green et al.2015, Solar cell efficiency tables (Version 45), ROGRESS IN PHOTOVOLTAICS: RESEARCH AND APPLICATIONS, 23:1-9
- S.M.Ali et al., 2012, International Journal of Electrical Engineering Applications Research (IJEEAR), 03: 200-203
- Tom Markvart, Luis Castañer, 2003, Pratical Handbook of Photovoltaic –Fundamentals and Application, pp.: 72

## ÍNDICE



# Índice de palabras clave

## A

|  |          |
|--|----------|
| <i>Abiotic stress</i> .....            | 131      |
| <i>Ácido ferúlico</i> .....            | 147      |
| <i>adaptaciones</i> .....              | 201      |
| <i>AGPI n-3</i> .....                  | 209      |
| <i>agricultura de precisión</i> .....  | 75       |
| <i>agricultural soils</i> .....        | 109      |
| <i>agriculture</i> .....               | 253      |
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ..... | 197, 225 |
| <i>AGRODÍA</i> .....                   | 31       |
| <i>Agroecosistemas</i> .....           | 221      |
| <i>Agua</i> .....                      | 71       |
| <i>Alelopatía</i> .....                | 245      |
| <i>AMIDASE 1 (AMI1)</i> .....          | 15       |
| <i>Andalucía</i> .....                 | 95       |
| <i>aplicaciones</i> .....              | 217      |
| <i>App</i> .....                       | 83       |
| <i>Arabidopsis</i> .....               | 131      |
| <i>arbequina</i> .....                 | 249      |
| <i>ArcGis</i> .....                    | 71       |
| <i>Asparagus officinalis</i> .....     | 241      |
| <i>Auxins</i> .....                    | 15       |
| <i>Aymara communities</i> .....        | 163      |
| <i>ayuno</i> .....                     | 125      |

## B

|  |     |
|--|-----|
| <i>Banano</i> .....                          | 23  |
| <i>barrenador esmeralda del fresno</i> ..... | 229 |
| <i>barrera hematoencefálica</i> .....        | 155 |
| <i>bienestar animal</i> .....                | 125 |
| <i>bioaccumulation</i> .....                 | 79  |
| <i>biodiversidad</i> .....                   | 91  |
| <i>Bioetanol</i> .....                       | 23  |
| <i>biomasa algal</i> .....                   | 113 |
| <i>Bosque</i> .....                          | 53  |
| <i>bosques</i> .....                         | 91  |
| <i>Botrytis</i> .....                        | 27  |
| <i>bovino</i> .....                          | 19  |
| <i>Brasil</i> .....                          | 91  |

## C

|                     |     |
|---------------------|-----|
| <i>cactus</i> ..... | 201 |
| <i>Calcio</i> ..... | 67  |

## Ch

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| <i>Chair of Food Banks UPM</i> ..... | 167 |
| <i>Chemometry</i> .....              | 41  |

## C

|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| <i>co-cultivo</i> .....           | 197 |
| <i>Colonias de levadura</i> ..... | 237 |
| <i>compactación</i> .....         | 241 |
| <i>compost de orujo</i> .....     | 213 |
| <i>conejas</i> .....              | 209 |
| <i>conservación</i> .....         | 53  |
| <i>control biológico</i> .....    | 229 |
| <i>cosecha</i> .....              | 191 |
| <i>crosstalk</i> .....            | 87  |
| <i>cultivo captura</i> .....      | 7   |

## D

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| <i>déficit hídrico</i> .....  | 7   |
| <i>desarrollo rural</i> ..... | 179 |
| <i>dieta</i> .....            | 187 |
| <i>dissemination</i> .....    | 167 |

## E

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| <i>Ecológico</i> .....          | 143 |
| <i>edulcorante</i> .....        | 95  |
| <i>efecto invernadero</i> ..... | 19  |
| <i>efector</i> .....            | 11  |
| <i>eficiencia</i> .....         | 187 |
| <i>emprendimiento</i> .....     | 179 |
| <i>encuesta</i> .....           | 31  |
| <i>Epidemia</i> .....           | 71  |
| <i>estrés abiótico</i> .....    | 159 |
| <i>estrés hídrico</i> .....     | 249 |
| <i>Explotación</i> .....        | 143 |

## F

|                                    |     |
|------------------------------------|-----|
| <i>fermentación cecal</i> .....    | 101 |
| <i>fermentación ruminal</i> .....  | 61  |
| <i>fertilidad</i> .....            | 205 |
| <i>Feto-Placenta</i> .....         | 151 |
| <i>Fijación de nitrógeno</i> ..... | 117 |
| <i>Fitófagos</i> .....             | 229 |
| <i>Foie gras</i> .....             | 171 |
| <i>Food allergen</i> .....         | 41  |
| <i>forrajes</i> .....              | 61  |
| <i>fósforo</i> .....               | 213 |
| <i>Frambuesa</i> .....             | 191 |
| <i>función de beneficio</i> .....  | 205 |

## G

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| <i>gases de escape</i> ..... | 113 |
|------------------------------|-----|



|                                     |     |
|-------------------------------------|-----|
| <b>genoteca</b> .....               | 117 |
| <b>germinación</b> .....            | 245 |
| <b>Gestión de información</b> ..... | 233 |
| <b>grafeno</b> .....                | 217 |
| <b>granja virtual</b> .....         | 187 |

## H

|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| <b>hacinamiento</b> .....         | 125 |
| <b>heavy metals</b> .....         | 79  |
| <b>hembras mejoradas</b> .....    | 37  |
| <b>hemp</b> .....                 | 79  |
| <b>Henna</b> .....                | 135 |
| <b>hidratos de carbono</b> .....  | 101 |
| <b>Hidrólisis</b> .....           | 147 |
| <b>hipocalcemia</b> .....         | 67  |
| <b>hipoxia</b> .....              | 159 |
| <b>Huevos</b> .....               | 143 |
| <b>Hyper-spectral image</b> ..... | 41  |

## I

|   |         |
|---|---------|
| <b>in vitro</b> .....                       | 61, 101 |
| <b>índice de excentricidad</b> .....        | 237     |
| <b>índice de Fourier</b> .....              | 237     |
| <b>Indole-3-acetic acid (IAA)</b> .....     | 15      |
| <b>industria alimentaria</b> .....          | 171     |
| <b>inseminación artificial</b> .....        | 37      |
| <b>interacción rizobio-leguminosa</b> ..... | 11      |
| <b>inundación</b> .....                     | 159     |
| <b>investigación</b> .....                  | 155     |

## L

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| <b>Lawsonia inermis</b> ..... | 135 |
|-------------------------------|-----|

## M

|                                  |          |
|----------------------------------|----------|
| <b>Manejo</b> .....              | 233      |
| <b>Manejo Sustentables</b> ..... | 221      |
| <b>mecanización</b> .....        | 121, 191 |
| <b>Mejora genética</b> .....     | 197      |
| <b>metabolismo</b> .....         | 67       |
| <b>Metano</b> .....              | 19       |
| <b>metodologías</b> .....        | 49       |
| <b>microalgas</b> .....          | 113      |
| <b>microbiología</b> .....       | 175      |
| <b>mitos</b> .....               | 201      |
| <b>mujer</b> .....               | 179      |
| <b>mutante</b> .....             | 117      |

## N

|                          |       |
|--------------------------|-------|
| <b>nanojeringa</b> ..... | 11    |
| <b>NIR spectra</b> ..... | 41    |
| <b>nitrógeno</b> .....   | 7, 49 |
| <b>Nutrición</b> .....   | 151   |
| <b>nutrientes</b> .....  | 75    |
| <b>Nuts</b> .....        | 41    |

## O

|                           |    |
|---------------------------|----|
| <b>optimización</b> ..... | 57 |
|---------------------------|----|

|                        |     |
|------------------------|-----|
| <b>Oveja</b> .....     | 151 |
| <b>oxylipins</b> ..... | 87  |

## P

|   |     |
|---|-----|
| <b>Parenclitic method</b> .....           | 131 |
| <b>pharmaceuticals</b> .....              | 109 |
| <b>pigmentos-poliméricos</b> .....        | 183 |
| <b>Piranoantocianos</b> .....             | 183 |
| <b>plaga</b> .....                        | 83  |
| <b>Población</b> .....                    | 105 |
| <b>podredumbre</b> .....                  | 27  |
| <b>Postulados de Koch</b> .....           | 27  |
| <b>Prácticas Alternativas</b> .....       | 221 |
| <b>Predictive networks</b> .....          | 131 |
| <b>producción</b> .....                   | 209 |
| <b>producción animal</b> .....            | 171 |
| <b>producción leche</b> .....             | 187 |
| <b>Producto Interno Bruto (PIB)</b> ..... | 105 |
| <b>Productos agrícolas</b> .....          | 105 |
| <b>propiedades</b> .....                  | 217 |
| <b>PV</b> .....                           | 253 |

## R

|  |     |
|--|-----|
| <b>Rapaces</b> .....                   | 139 |
| <b>rational food consumption</b> ..... | 167 |
| <b>RDC</b> .....                       | 249 |
| <b>reducción de pérdidas</b> .....     | 121 |
| <b>Regurgitaciones</b> .....           | 139 |
| <b>Reserva</b> .....                   | 53  |
| <b>Residuos</b> .....                  | 23  |
| <b>residuos orgánicos</b> .....        | 245 |
| <b>resilience</b> .....                | 163 |
| <b>riesgos</b> .....                   | 91  |
| <b>Roedores</b> .....                  | 139 |

## S

|   |         |
|---|---------|
| <b>Salvado de trigo</b> .....             | 147     |
| <b>Sector vitivinícola</b> .....          | 49      |
| <b>sensor de suelo</b> .....              | 75      |
| <b>sincronización de celos</b> .....      | 37      |
| <b>sirato</b> .....                       | 175     |
| <b>Sistema de Producción</b> .....        | 233     |
| <b>Sistema de secreción tipo VI</b> ..... | 11      |
| <b>social learning</b> .....              | 163     |
| <b>Solanum lycopersicum L</b> .....       | 83      |
| <b>Solanum tuberosum</b> .....            | 225     |
| <b>Solar energy</b> .....                 | 253     |
| <b>solar water pump</b> .....             | 253     |
| <b>sostenibilidad</b> .....               | 121     |
| <b>SUBTOR-Potato</b> .....                | 57      |
| <b>suelo</b> .....                        | 95, 175 |
| <b>suelos calizos</b> .....               | 213     |
| <b>sustrato</b> .....                     | 241     |

## T

|                            |     |
|----------------------------|-----|
| <b>taller</b> .....        | 31  |
| <b>tinte natural</b> ..... | 135 |

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| <b>Transformación genética</b> ..... | 225 |
| <b>transportadores</b> .....         | 155 |

## **V**

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| <b>vacuno de carne</b> ..... | 205 |
| <b>vino</b> .....            | 183 |

## **W**

|                    |     |
|--------------------|-----|
| <b>WWTPs</b> ..... | 109 |
|--------------------|-----|

## **Y**

|                    |    |
|--------------------|----|
| <b>YUCCA</b> ..... | 87 |
|--------------------|----|

## **Z**

|                              |    |
|------------------------------|----|
| <b>Zona vulnerable</b> ..... | 57 |
|------------------------------|----|



# Índice de autores

|                                       |               |
|---------------------------------------|---------------|
| Abad Guaman, Rodrigo.....             | 101           |
| Albero, Beatriz .....                 | 109           |
| Alonso, Alba .....                    | 45            |
| Angulo Cerezo, Raquel .....           | 125, 143      |
| Arnal Olivares, Alberto.....          | 229           |
| Atencia Luz Karime.....               | 19            |
| Aznar, Ramón .....                    | 109           |
| Benítez Villanueva, Gustavo.....      | 95            |
| Bentivenha, Rafael Bestana .....      | 91, 241, 245  |
| Bermejo-Poza, Rubén .....             | 125           |
| Butí Sarabia, Mireia.....             | 101           |
| Calvo Molinero, Georgina .....        | 187           |
| Campos Fernández, Noelia .....        | 121           |
| Campos, Wendell Figueiredo .....      | 91            |
| Carrillo, Laura .....                 | 159, 197, 225 |
| Castañó, Javier.....                  | 167           |
| Cherif Espinosa, Nora.....            | 67            |
| Comas, Marina .....                   | 167           |
| Cosme López, Eduardo.....             | 135           |
| Daza García, Jesús.....               | 217           |
| De Jesús, Frami .....                 | 71, 105       |
| De Los Santos, Lucrecia .....         | 71            |
| de Silóniz, María Isabel.....         | 237           |
| Delgado Uribe, Katherine Brisset..... | 67            |
| Díaz González, Sandra .....           | 27            |
| Domínguez, José .....                 | 197           |
| Dorado Arco, Rocío.....               | 31            |
| Durán, David .....                    | 11            |
| Escott, Carlos.....                   | 183           |
| Fernández López-Rey, David.....       | 83            |
| Fernández Rubín de Celis, Marta ..... | 213           |
| Formoso-Rafferty, Nora.....           | 45            |
| Freitas Costa, Patrícia .....         | 175           |
| G.P. Moreda.....                      | 253           |
| García Terrón, Ainhoa .....           | 155           |
| García, Carmen .....                  | 163           |
| Ghosh, Satyabrata .....               | 41            |
| Gil de Prado, Elena.....              | 237           |
| Gómez López, Carla .....              | 53            |
| Gómez Páez, Marcela .....             | 131           |
| Gómez Rubio, Laura.....               | 155           |
| González del Valle, Lucía .....       | 57            |
| González, Diego.....                  | 201           |
| González, Mar.....                    | 197, 225      |
| Guerrero Hinojosa, Ana Belén .....    | 23            |
| Hentrich, Mathias .....               | 87            |
| Hernández Martín, Antonio .....       | 187           |
| Hossain, Amir.....                    | 159           |
| Huaxin Wang.....                      | 253           |
| Laredo, Marta.....                    | 209           |
| Leydi Giovanna.....                   | 53            |
| López García, Francisco José.....     | 79            |
| López González, Miriam.....           | 179           |



|   |          |
|---|----------|
| López-Paredes, Javier .....                     | 205      |
| López-Tello, Jorge .....                        | 151      |
| Marchesini, Giuseppina .....                    | 11       |
| Martín Girela, María Isabel .....               | 113      |
| Martín, Álvaro .....                            | 167      |
| Martínez Alba .....                             | 19       |
| Martínez, Ainhoa .....                          | 147      |
| Martínez-Caro, Raquel .....                     | 49       |
| Millán Sáez, Almudena .....                     | 217      |
| Mishra, Puneet .....                            | 41       |
| Mohamad, Siti Nur Hidayah .....                 | 41       |
| Mora Valls, Paula .....                         | 139      |
| Moreno Cerero, Diego .....                      | 139      |
| Morera Martínez, Carmen .....                   | 37       |
| Navarro-Galiano, Alejandro .....                | 159      |
| Núñez Uzquiano, Nuria .....                     | 143      |
| Ocasio Vega, Cesar .....                        | 101      |
| Ode Leyton, Juan Pablo .....                    | 191      |
| Pacheco, Alba .....                             | 11       |
| Pastor Carretero, Raquel .....                  | 179      |
| Penha Costa, Bruna .....                        | 221, 233 |
| Pérez Béjar, Susana .....                       | 121      |
| Pérez Larrañaga, Bárbara .....                  | 171      |
| Pérez-Alonso, Marta-Marina .....                | 87       |
| Polanco, Yosemni .....                          | 71       |
| Pollmann, Stephan .....                         | 15       |
| Ramos Báez, Mireia .....                        | 61       |
| Requena, Elena .....                            | 225      |
| Resende de Assis, Lucas Lenin .....             | 175      |
| Rivas, Eva María .....                          | 237      |
| Rivera, María .....                             | 163      |
| Rocha de Moraes Rego, Carlos Augusto .....      | 221, 233 |
| Rodríguez Alonso, Carolina M <sup>a</sup> ..... | 67       |
| Rodríguez, Héctor .....                         | 249      |
| Rodríguez, María .....                          | 209      |
| Rubio José Manuel .....                         | 19       |
| Sánchez-Brunete, Consuelo .....                 | 109      |
| Sánchez-Parra, Beatriz .....                    | 15       |
| Santana, Nuria .....                            | 75       |
| Santos, Nicolas Cristovão dos .....             | 91       |
| Sanz López, Alejandro .....                     | 117      |
| Sanz Ortiz, Alejandro .....                     | 31       |
| Sevillano Bonilla .....                         | 53       |
| Silva, Stefany C.M. .....                       | 245      |
| Tonini Eitelwein, Mateus .....                  | 75       |
| Vasque, Henrique .....                          | 241, 245 |
| Velasco, Beatriz .....                          | 45, 209  |
| Vicente Martín, María de Fátima .....           | 155      |
| Vidueira Mera, Pablo .....                      | 179      |
| Zanin, Massimiliano .....                       | 131      |



# Índice de tutores

|   |                    |
|---|--------------------|
| Aguado Cortijo, Pedro Luis .....                | 23, 135            |
| Alenda, Rafael .....                            | 205                |
| Alvir Morencos, María .....                     | 139                |
| Arce Martínez, Augusto .....                    | 217                |
| Arias-Álvarez, María .....                      | 151                |
| Azarias Guimarães, Amanda .....                 | 175                |
| Barreiro, Pilar .....                           | 41, 75, 237        |
| Buxadé Carbó, Carlos .....                      | 37                 |
| Callejo, M <sup>a</sup> Jesús .....             | 147                |
| Carro Travieso, María Dolores .....             | 61, 101            |
| Cartagena Causapé, M <sup>a</sup> Carmen .....  | 49, 213            |
| Cazorla, Adolfo .....                           | 163                |
| Correa Hernando, Eva Cristina .....             | 121                |
| Curt, María .....                               | 23                 |
| De la Fuente, Jesús .....                       | 125                |
| De los Ríos Carmenado, Ignacio .....            | 179                |
| Diezma-Iglesias, Belén .....                    | 41, 237, 241       |
| Fernández González, Jesús .....                 | 113                |
| Fredes Monsalve, Claudio .....                  | 191                |
| Gabriel, José Luis .....                        | 7                  |
| García Alonso, Javier .....                     | 101                |
| Gómez del Campo, María .....                    | 249                |
| Hernández Díaz-Ambrona, Carlos Gregorio .....   | 71, 83, 95, 105    |
| Iglesias, Ana .....                             | 91                 |
| Jimeno Vinatea, Vicente .....                   | 67                 |
| Lizaso, Jon I. ....                             | 57                 |
| Loira, Iris .....                               | 183                |
| Maria de Souza Moreira, Fátima .....            | 175                |
| Martínez Laborde, Juan Bautista .....           | 229                |
| Martínez Ros, Paula .....                       | 37                 |
| Masaguer, Alberto .....                         | 241, 245           |
| Medina Alcázar, Joaquín .....                   | 131, 159, 197, 225 |
| Mendiola Ubillos, María Ángeles .....           | 135                |
| Molin, José Paulo .....                         | 75                 |
| Moliner Aramendia, Ana María .....              | 53, 79             |
| Morata, Antonio .....                           | 147, 183           |
| Moreno, Santiago .....                          | 201                |
| Moya González, Adolfo .....                     | 121                |
| Palacios Alberti, José Manuel .....             | 117                |
| Pardo García, Elena .....                       | 31                 |
| Pollmann, Stephan .....                         | 15, 87             |
| Quemada, Miguel .....                           | 7                  |
| Rebollar, Pilar G. ....                         | 19, 45, 209        |
| Requejo Mariscal, María Isabel .....            | 49, 213            |
| Rey, Luis .....                                 | 11                 |
| Roquero García-Casal, Elvira .....              | 31                 |
| Sacristán Benayas, M <sup>a</sup> Soledad ..... | 27                 |
| Sanz-Cobeña, Alberto .....                      | 221                |
| Sastre, Susana .....                            | 163, 167           |
| Tadeo, José Luis .....                          | 109                |
| Valero Ubierna, Constantino .....               | 191                |
| Valero Ubierna, Constatino .....                | 233                |
| Vallejo, Antonio .....                          | 109                |

|                                  |                    |
|----------------------------------|--------------------|
| Vicente-Carbajosa, Jesús.....    | 131, 159, 197, 225 |
| Villamide Díaz, María Jesús..... | 171, 187           |
| Villarroel, Morris .....         | 125                |